

NICHTENZYMATISCHE GLUKOSYLIERUNG
VERSCHIEDENER MENSCHLICHER GEWEBSPROBEN
BEI DIABETIKERN UND NICHTDIABETIKERN

BERND WOLFRAM VOGT

198~~7~~5

*Dess
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554807_0054

Aus der Forschergruppe Diabetes und dem Institut
für Klinische Chemie am Städtischen Krankenhaus
München - Schwabing

Direktor: Prof. Dr. O.H. Wieland

Nichtenzymatische Glukosylierung verschiedener
menschlicher Gewebeproben bei Diabetikern und
Nichtdiabetikern

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Bernd Wolfram Vogt
aus
Garmisch - Partenkirchen

Jahr

1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians Universität München

Berichterstatter: Prof.Dr.O.H.Wieland

Mitberichterstatter: Prof.Dr.H.Mehnert

Dekan: Prof.Dr.W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 29.1.1985

Inhalt

1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	
2.1.Ursprung und Aufarbeitung der Gewebeproben ...	11
2.2.Einteilung des Sektionsmaterials	14
2.3.Hydrolyse der Gewebeproben	16
2.4.Das HPLC-System	16
2.5.Identifizierung der Meßgröße Furosin in den Chromatogrammen	18
2.6.Auswertung der Chromatogramme	19
2.7.Bestimmung des Blutgehaltes der Gewebeproben :	24
2.8.Statistische Auswertung	25
3. Ergebnisse	
3.1.Nichtenzymatische Glukosylierung insulin- sensitiver Gewebe am Beispiel von Herz- und Skelettmuskulatur	27
3.2.Nichtenzymatische Glukosylierung insulin- insensitiver Gewebe	28
3.3.Abhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosy- lierung von der Dauer des Diabetes	38
3.4.Abhängigkeit der NEG nichtdiabetischer Patienten vom Lebensalter - ist die NEG eine mögliche Ur- sache für menschliche Alterungsprozesse?	41
3.5.Arteriosklerose und die NEG der Aorta	45

4.	Diskussion	
4.1.	Die NEG bei insulinabhängigen und insulinunabhängigen Geweben	48
4.2.	Vergleich mit der NEG von Albumin und Abschätzung des Anteils an glukosyliertem Lysin	49
4.3.	Mögliche Bedeutung der NEG für die Pathogenese der diabetischen Spätkomplikationen	51
4.4.	Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der diabetischen Spätschäden und der Höhe der NEG	57
4.5.	Mögliche Bedeutung der vorliegenden Arbeit für die forensische Medizin	62
5.	Zusammenfassung	64
6.	Literaturverzeichnis	66
7.	Anhang 1 zusammenfassende Wertetabelle	87
8.	Anhang 2 Statistische Auswertung - Auftragung auf Wahrscheinlichkeitspapier	94

Dank

Lebenslauf

1) Einleitung

Bei Diabetikern stehen heute unter den Todesursachen nicht mehr das Coma diabeticum oder Infektionen an erster Stelle, sondern die Folgen der gefürchteten Spät komplikationen, vor allem die Folgen der Makro- und der Mikroangiopathie. Das Ausmaß dieser Spät komplikationen hängt, wie man heute annimmt, sehr wesentlich von der Stoffwechseleinstellung des Diabeteskranken ab. Je besser diese gelingt, umso geringer ist die statistische Wahrscheinlichkeit für das Auftreten und das Ausmaß der genannten Komplikationen (1,2).

Die pathobiochemischen Ursachen (3,4) der diabetischen Spät komplikationen liegen noch weitgehend im Dunklen. Jedoch fällt auf, daß die diabetischen Spätschäden bevorzugt an denjenigen Geweben auftreten, die dem Blutzuckerspiegel ausgesetzt sind. Das sind neben den extrazellulär vorliegenden Bindegeweben solche Gewebe, bei denen der Glucoseeinstrom in die Zelle insulinunabhängig verläuft, wie zum Beispiel bei Erythrozyten, Nierenglomeruli, Nerven und der Retina. Es ist also denkbar, daß der Glucosespiegel selbst für die fatalen Konsequenzen bei den Diabetikern verantwortlich ist. Für die schädliche Wirkung der Glucose werden u.a. folgende Möglichkeiten diskutiert (5):

- a) die vermehrte Bildung von UDP- Hexosen und UDP-Hexonuraten, welche zu einer Überproduktion von Glykogen, Glykoproteinen und Glykosaminoglykanen führt
- b) die enzymatische Umwandlung von Glucose durch Aldosereduktase und Sorbitoldehydrogenase (Sorbitol-Pathway) zu Sorbit und Fructose, welche intrazellulär akkumulieren und hierdurch osmotische Schäden verursachen
- c) die nichtenzymatische Bindung von Glucose an die freien Aminogruppen von Proteinen, wodurch deren strukturelle und funktionelle Eigenschaften geändert werden können

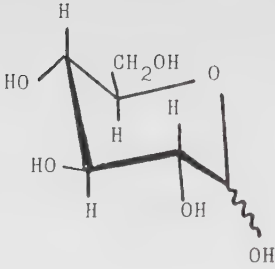
In der vorliegenden Arbeit wurde nur der letzte Mechanismus, die nichtenzymatische Glukosylierung (NEG), und deren mögliche Bedeutung für die Pathogenese der diabetischen Spätschäden, wie Retinopathie, Nephropathie, Arteriosklerose und Herzinfarkt sowie der Neuropathie behandelt.

Prinzipiell können alle frei vorliegenden Aminogruppen nichtenzymatisch glukosyliert werden. Aufgrund ihrer Häufigkeit ist die ϵ -Aminogruppe des Lysins am bedeutendsten, jedoch sind meist nur wenige ϵ -Aminogruppen eines Proteins betroffen (6) - vergl. auch diese Arbeit S.49. Das Ausmaß der Glukosylierung hängt im wesentlichen

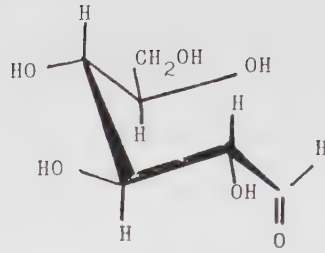
von der durchschnittlichen Glucosekonzentration und der Zeit, der dieses Protein dieser Glucosekonzentration ausgesetzt ist, ab.

Die Reaktion reduzierender Zucker mit freien Aminogruppen wurde erstmals von Maillard beschrieben (Maillard-Reaktion),(7,8) und hat vor allem für die technische Verarbeitung von Nahrungsmitteln als "Bräunungsreaktion" praktische Bedeutung erlangt(9).

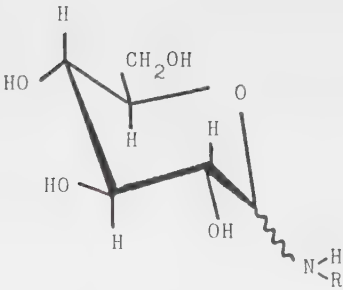
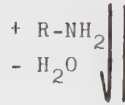
Zunächst entsteht aus der Carbonylgruppe des Zuckers mit einer freien Aminogruppe eine Schiff'sche Base, ein sog. Aldimin. Dieses Aldimin isomerisiert in der sog. Amadoriumlagerung zum entsprechenden Ketoamin (10), das physiologischerweise in Ringstruktur vorliegt. Das Reaktionsschema ist in Abb.(1) dargestellt. Da die Amadoriumlagerung unter physiologischen Bedingungen irreversibel ist, geht man heute allgemein davon aus, daß nichtenzymatisch proteingebundene Glucose während der gesamten Lebensdauer dieses Proteins gebunden bleibt.



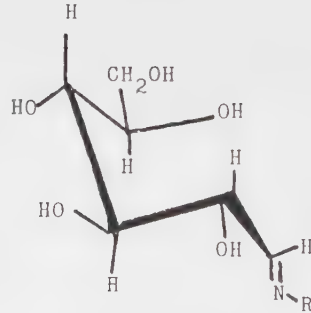
cyclische Halbacetal-
form der Glucose



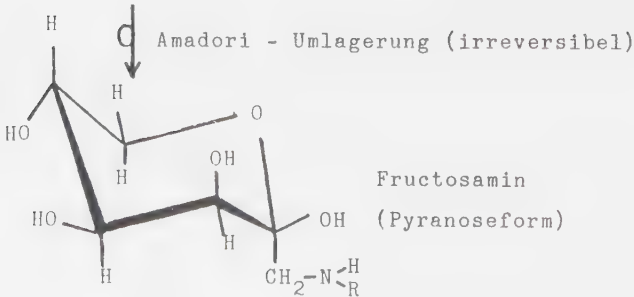
offenkettige Form der
Glucose



Pyranoseform des
Glucosamins



Schiff - Base



Fructosamin
(Pyranoseform)

Abb.1 Reaktionsschema für die nichtenzymatische
Glukosylierung von Proteinen (9,11)

Mit der Entdeckung der glukosylierten Hämoglobine (HbA_{1a-c}) beim Menschen (12,13) wurde erstmals gezeigt, daß nichtenzymatische Glukosylierung auch unter physiologischen Bedingungen stattfinden kann. Inzwischen wurde gezeigt, daß auch andere Proteine postribosomal glukosyliert werden. Einen Überblick über die bislang bekannten physiologischerweise glukosyliert vorliegenden Gewebe und Proteine und deren mögliche Konsequenzen für die Pathogenese verschiedener bei Diabeteskranken auftretenden Spätkomplikationen gibt Tab.(1).

Wie ersichtlich ist über die Glukosylierung verschiedener humaner Gewebe bislang noch relativ wenig bekannt. Analytisch liegt zudem vielen der bisherigen Arbeiten eine kolorimetrische Bestimmung von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) mittels Thiobarbitursäure zugrunde. (vergl.Tab.1)

Diese sog. "HMF-Methode" ist jedoch nicht streng spezifisch für die nichtenzymatische Glukosylierung, da sie auch Kohlenhydrate miterfaßt, die enzymatisch an das Protein gebunden worden sind. Deshalb mißt man mit der HMF-Methode bei Glykoproteinen höhere Glukosylierungen als mit der in der vorliegenden Arbeit angewandten Methode der HPLC- Furosinbestimmung, während bei Nicht-Glykoproteinen, wie z.B. Albumin, beide Methoden übereinstimmende Ergebnisse liefern (6). Dagegen ist die von der Arbeitsgruppe Cerami ange-

untersuchtes Gewebe bzw. Protein	Herkunft	Analysen- methode	Arbeitsgruppe	Lit.	mögliche physiolog. Bedeutung
Hämoglobin	Mensch		Holmquist und Schröder	12	erhöhte Sauerstoff- affinität (14,15)
	Mensch	NaB^3H_4	Bunn et al.	13	
Serumalbumin	Mensch	HMF-TBA	Dolhofer und Wieland	16	erhöhte transkapillare Permeation (18-21) Akkumulation in der kapillaren Basalmembran? (22,23)
	Mensch	HMF-TBA	Day et al.	17	
Serumproteine	Mensch	HMF-TBA	Mc Farland et al.	24	
	Mensch	HMF-TBA	Yue et al.	25	
	Mensch	HMF-TBA	Dolhofer und Wieland	26	
	Mensch	HMF-TBA	Ma et al.	19	
	Mensch	HPLC- Furosine	Schleicher und Wieland	6	
Serumlipoproteine	Mensch	HPLC- Furosine	Schleicher et al.	27	Änderung der LDL-Rezeptor- Spezifität (28-31) beschleunigte HDL- Katabolisierung (32)
	Mensch	NaB^3H_4	Witztum et al.	28	
Erythrozyten- membranproteine	Mensch	KB^3H_4	Bailey et al.	33	Zunahme der ADP-Permea- bilität (37), Abnahme der Erythrozytendeformierbarkeit und Zunahme der Erythrozyten adhäsion? (38-40)
	Mensch	NaB^3H_4	Miller et al.	34	
	Mensch	HPLC- Furosine	Schleicher et al.	35	
	Mensch	HMF-TBA	Mc Millan und Brook	36	
Kollagen der glomerulären Basalmembran	Mensch	HMF-TBA	Vitto et al.	41	Anormale Quervernetzung, Änderungen der Struktur und der Filtrationseigen- schaften? (41)
	Ratte	HMF-TBA	Chang, Noble	42	
	Ratte	HMF-TBA	Cohen et al.	43	
	Ratte	HMF-TBA	Le Pape et al.	44	
Hautkollagen	Mensch	HMF-TBA	Buckingham	45	wachsige Haut? (47) Alterungsprozesse (46,48)?
	Mensch	HMF-TBA	Schnider, Kohn	46	
	Rind	NaB^3H_4	Robins, Bailey	49	

untersuchtes Gewebe bzw. Protein	Herkunft	Analysen- methode	Arbeitsgruppe	Lit.	mögliche physiolog. Bedeutung
Sehnenkollagen	Mensch	HMF-TBA	Schnider, Kohn	48	reduzierte Gelenkbeweg- lichkeit? (51)
	Ratte	HMF-TBA	Le Pape et al.	50	
Aortenkollagen	Ratte	HMF-TBA	Rosenberg et al.	52	Steifheit der Aorta?
peripheres Nervengewebe	Ratte	NaB ³ H ₄	Viassara et al.	53	Änderungen der Nervenzell- struktur und der Nerven- leitfähigkeit?
	Mensch	HPLC- Furosine	diese Arbeit	54	
Hirn - Tubulin	Ratte	NaB ³ H ₄	Williams et al.	60	Neuropathie?
Linsenkristallin	Rind	NaB ³ H ₄	Chiou et al.	55	Kataraktbildung? (56,57)
	Mensch	NaB ³ H ₄	Ansari et al.	58	
	Mensch	NaB ³ H ₄	Pande et al.	57	
	Ratte	NaB ³ H ₄	Monnier et al.	59	

Tab.1 Überblick über die bisher in der Literatur beschriebenen nichtenzymatischen Glukosylierungen von Geweben bez. Proteinen und deren mögliche physiologische Bedeutung.

Unter der Spalte "Analysenmethode" ist die jeweils zugrundeliegende Meßmethode angegeben. Es bedeuten:

HMF-TBA: Messung der NEG durch kolorimetrische Bestimmung von 5-Hydroxymethylfurfural (HMF) mittels Thiobarbitursäure (TBA)

NaB³H₄ : Bestimmung der NEG durch Reduktion der Ketoaminbindung mittels radioaktiv markiertem Borhydrid und Messung der ³H - Inkorporation nach chromatographischer Trennung

HPLC-Furosine: Ermittlung der NEG durch quantitative UV-Bestimmung von Furosine nach salzsaurer Hydrolyse und anschließender HPLC - Auftrennung.

Vergl. auch S.8.

wandte Methode (Reduktion mit radioaktiv markiertem NaB^3H_4 und anschließende chromatographische Trennung des Proteinhydrolysats und Messung der Radioaktivität) zwar spezifisch für die NEG, erlaubt jedoch keine genaue Quantifizierung.

In der vorliegenden Arbeit wurde die quantitative Bestimmung der NEG nach der von Schleicher und Wieland beschriebenen Furosinbestimmung mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie durchgeführt (6). Diese Methode ermöglicht es, spezifisch die NEG der freien ϵ -Aminogruppe des Lysins zu messen. Nach salzsaurer Hydrolyse dieser glukosylierten Lysinreste entstehen unter anderem Produkte, welche spezifische Indikatoren für die Ketoaminbindung zwischen der ϵ -Aminogruppe des Lysins mit dem Zucker sind (61-65). Das Reaktionsschema ist in Abb.(2) dargestellt.

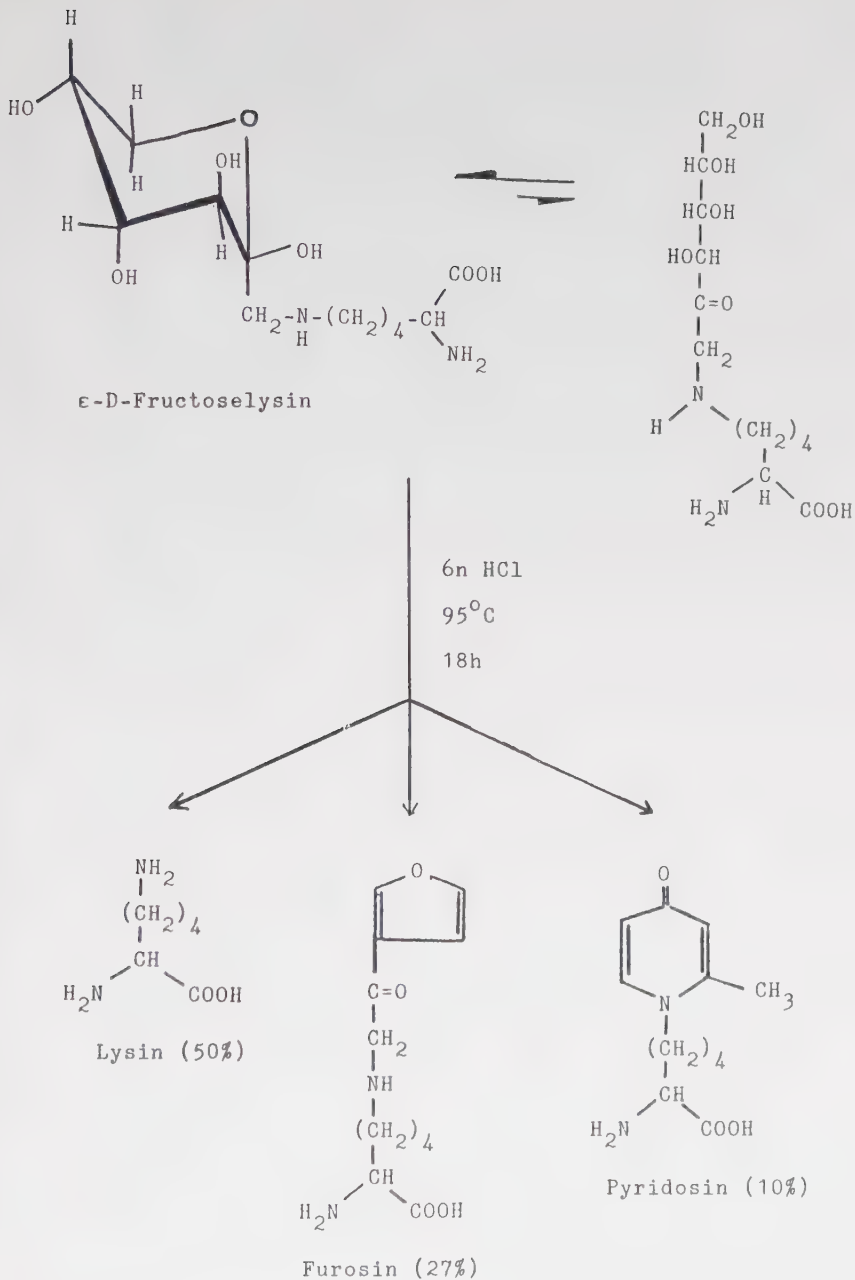


Abb.2 Die Hydrolyseprodukte der salzsauren Hydrolyse von Fructoselysin. In Klammern die Ausbeuten bei Einhaltung der genannten Hydrolysebedingungen. Nach (b).

Furosin, das unter definierten Hydrolysebedingungen (6n HCl, 95°C, 18h) mit 27% Ausbeute entsteht, erwies sich für die Quantifizierung der NEG als besonders geeignet. Es kann nach Trennung mittels Hochdruck-flüssigkeitschromatographie über die UV-Absorption seines Furanringes quantitativ bestimmt werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die NEG verschiedener Gewebsproteine beim Menschen nachzuweisen, dabei nach quantitativen Unterschieden zwischen Diabetikern und Nichtdiabetikern zu suchen und eventuell einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der diabetischen Spätschäden einerseits und der Höhe der NEG andererseits zu finden.

2) Material und Methoden

2.1) Ursprung und Aufarbeitung der Gewebsproben

Alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Gewebsproben sind menschlichen Ursprungs und sind Sektionsmaterial aus dem Pathologischen Institut des Krankenhauses München-Schwabing. Bei der Aufarbeitung der verschiedenen Gewebe wurde wie folgt verfahren:

Sehnengewebe

Alle Sehnenproben wurden aus dem Zungen-Schlund-Paket entnommen, und zwar jeweils die Zwischensehne des zweibäuchigen M.digastricus, die mit einer Faszien-schlinge am Zungenbein befestigt ist. Nach sauberer Freipräparation der Sehne wurde eine Probe eingewogen und hydrolysiert.

Aortengewebe

Bei einem Teil dieser Proben wurde differenziert zwischen der Höhe der Entnahmestelle (Aortenbogen, Brust-aorta, Bauch-aorta vor und nach Abgang der A.renalis) einerseits, sowie dem Grad arteriosklerotischer Veränderungen andererseits (Abschnitte ohne arteriosklerotische Veränderungen, Abschnitte mit Lipoid-einlagerungen, Abschnitte mit stärkerer Arteriosklerose und Abschnitte mit geschwürig aufgebrochenen Atherom-beeten).

Die übrigen Aortenproben wurden durchwegs einem arteriosklerotisch möglichst unveränderten Abschnitt der Brust-aorta entnommen.

Bei allen Proben wurde vor der Hydrolyse die Adventitia abpräpariert und verworfen.

Koronararteriengewebe

Die Proben wurden dem Anfangsteil des Ramus interventricularis anterior entnommen und die Adventitia wie bei der Aortenpräparation entfernt. Es wurde nicht zwischen mehr oder weniger stark arteriosklerotisch veränderten Gefäßabschnitten differenziert, jedoch immer nach Möglichkeit weniger stark betroffene Gebiete ausgewählt.

Peripheres Nervengewebe

Dazu wurde ein Stück des N.femoralis freipräpariert und ohne weitere Vorarbeiten hydrolysiert und analysiert.

Glomeruläre Basalmembran (GBM)

Glomeruläre Basalmembranen wurden nach Entfernen der Nierenkapsel aus den Rindenanteilen beider Nieren im wesentlichen nach dem von Krakower und Greenspon beschriebenen Verfahren(66) präpariert. Die folgenden Arbeitsschritte wurden bei $+4^{\circ}\text{C}$ durchgeführt:

Nachdem die Rindenstücke mit Pufferlösung (0,9% NaCl, 10mM KH_2PO_4 - pH7,4) gewaschen, kleingeschnitten und von sichtbaren Markstrahlen abgetrennt waren, wurden sie unter häufigem Spülen mit obigem Puffer durch ein Stahlsieb (Maschenweite 230 μm) gedrückt. Glomeruli und Tubuli ließen sich auf diese Weise vom im Sieb verbleibenden Bindegewebe trennen und im nächsten Schritt mittels eines engeren Stahlsiebs

(Maschenweite 140µm) separieren, wobei die Glomeruli im Sieb hängen blieben. Um die Basalmembran zu gewinnen wurden die Glomeruli in Aqua dest. suspendiert und ca 2min. mit 250-300 Watt ultrabeschallt (Gerät: Labsonic 1510, B.Braun, Melsungen) und das Ergebnis im Phasenkontrastmikroskop überprüft. Anschließend erfolgte DNase- Verdauung (50U/ml DNase I in 0.9% NaCl-Lösung, 1 Stunde bei 25°C rühren, dann die Basalmembran abzentrifugieren). Zur weiteren Reinigung wurde der Niederschlag 2 mal ca 3 Stunden in 4%iger Deoxycholat-lösung bei Raumtemperatur gerührt, schließlich 3-4 mal mit Aqua dest. gewaschen, abzentrifugiert und gefriergetrocknet.

Lungenbindegewebe

Um Lungenparenchymbindegewebe zu isolieren wurde im Prinzip die von R.John und J.Thomas (67) beschriebene Methode zur Elastingewinnung bis auf den letzten Schritt angewandt. Ca 14g Lungenparenchym wurden kleingeschnitten, in 100ml eiskalter 1M NaCl suspendiert und mit einem Ultraturrax-Homogenisator (Fa. Janke & Kunkel, Staufen im Breisgau) bei 25 000 U/min. unter Eisbadkühlung homogenisiert, dann 24 Stunden bei 4°C gerührt. Das hierbei ungelöst gebliebene Material wurde abzentrifugiert (2000g, 20min), wieder in 1M NaCl aufgenommen und diese Prozedur noch zweimal wiederholt. Der grauweiße Niederschlag wurde dann mit Aqua dest. kochsalzfrei gewaschen , mit Äthanol nachgewaschen

und zur Entfettung schließlich 12 Stunden in 100ml Chloroform/Methanol (2:1, v/v) gerührt. Der verbleibende Niederschlag wurde in einer Glasfritte abgesaugt und mit Aceton und Äther nachgewaschen. Nach dem Trocknen verblieb ein farbloses, faseriges Material, das überwiegend aus unlöslichem Kollagen und Elastin besteht, Ausbeute ca 100-300mg. Etwa 20mg davon wurden wie unten beschrieben hydrolysiert und analysiert.

2.2) Einteilung des Sektionsmaterials

Das Sektionsgut ließ sich an Hand der Krankengeschichten in drei Gruppen unterteilen: (als "mittlerer Blutzucker" wird dabei das aus den Labordaten errechnete arithmetische Mittel aller Blutzuckerbestimmungen des betreffenden Patienten bezeichnet)

- a) Nichtdiabetiker (ND): Patienten mit mittleren Blutzuckerwerten bis maximal 155mg/dl und ohne Hinweise auf einen Diabetes mellitus in der Krankengeschichte
- b) Patienten mit gestörter Glucosetoleranz oder leichtem, diätetisch einstellbarem Diabetes: hierzu gehören auch Fälle von chronischer Pankreatitis mit mäßiger Hyperglykämie sowie Fälle von Steroiddiabetes bei intensiver Glukokortikoidtherapie. Aus Gründen der Vereinfachung wird diese Gruppe im folgenden als "leichter Diabetes" (LD) zusammengefaßt.

c) Diabetiker (D): alle Patienten hatten einen zumindest seit einem Jahr bekannten Diabetes mellitus (1 Fall, alle anderen hatten seit 4-30 Jahren Diabetes), der mit oralen Antidiabetika oder Insulin behandelt wurde. Alle Patienten dieser Gruppe hatten mittlere Blutzuckerwerte über 160 mg/dl.

Die Zusammensetzung dieser drei Gruppen nach Alter und Geschlecht geht aus Tab.(2) hervor. Die Einzelwerte sind der Wertetabelle im Anhang (S.85) zu entnehmen.

Ge- schlecht	Nicht- diabetiker (ND)	Leichte Diabetiker (LD)	Diabetiker (D)	Gesamt
♂	$\bar{x} = 58$ (n = 15)	$\bar{x} = 56$ (n = 9)	$\bar{x} = 51$ (n = 4)	$\bar{x} = 57$ (n = 28)
♀	$\bar{x} = 70$ (n = 17)	$\bar{x} = 68$ (n = 8)	$\bar{x} = 74$ (n = 9)	$\bar{x} = 71$ (n = 34)
♂ + ♀	$\bar{x} = 65$ (n = 32)	$\bar{x} = 62$ (n = 17)	$\bar{x} = 67$ (n = 13)	$\bar{x} = 64$ (n = 62)

Tab.2 Zusammensetzung des Probenkollektivs nach
Alter ($\bar{x}$ = Durchschnittsalter) und Geschlecht

Demnach sind insbesondere die diabetischen und die nichtdiabetischen Patientenkollektive von annähernd gleichem Durchschnittsalter.

2.3) Hydrolyse der Gewebeproben

50-200mg der wie beschrieben vorbereiteten Gewebeproben wurden in ein Eppendorf-Cup eingewogen und mit 1ml 6n HCl bei 95°C 18 Stunden hydrolysiert. Das auf 3ml verdünnte Hydrolysat wurde durch ein 0,45µm Einwegfilter (Millex-HA, Fa. Millipore, Molsheim, Frankreich) direkt in die HPLC-Probegläschen filtriert.

2.4) Das HPLC-System

Der Aufbau des verwendeten Hochdruckflüssigkeitschromatographen geht aus folgendem Blockschaltbild hervor:

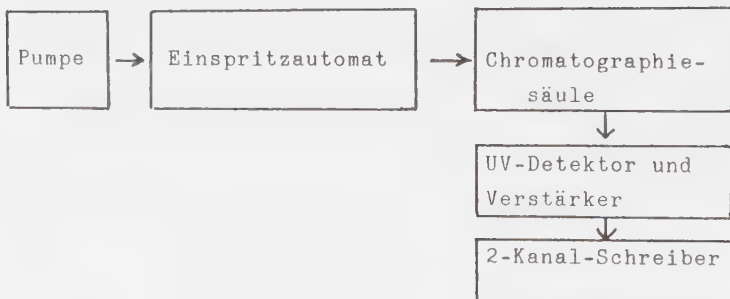


Abb.3 Blockschaltbild der HPLC-Anlage

Als Pumpe diente eine Kolbenpumpe (Waters Chromatography Pump Model 6000A, Fa.Waters, Königstein, Taunus). Mit dem Einspritzautomaten (WISP 710A, Fa.Waters) konnten Laufzeit und Injektionsvolumen von maximal 48 Proben vorausprogrammiert werden. Als Chromatographie-säule diente eine Nucleosil 5 μ -C₁₈ (Fa.Machery & Nagel, Düren). Der UV-Detektor erlaubte die synchrone Messung der Absorption bei 254 und 280nm, die dann mittels eines Zweikanalschreibers (Servogor, Fa.BBC Goerz, Österreich) gegen die Zeit aufgetragen wurde. Dieses Verfahren erleichterte die Zuordnung der Peaks, da diese nicht nur an Hand der Retentionszeit sondern auch mit Hilfe des substanzspezifischen Absorptionsquotienten

$$A_{280} / A_{254}$$

erfolgte. Die Geräteeinstellung war wie folgt:

Druck	ca 2000psi
Durchflußrate	1.2ml/min
Empfindlichkeit des Detektors ..	Stellung 0.01EE
Empfindlichkeit des Schreibers :	Stellung 10mV
Papiervorschub	5mm/min
Einspritzvolumen	15 μ l
Laufzeit pro Chromatogramm	40min

Einige Schwierigkeiten bereitete zunächst die ausreichende Trennung des Furosins, da die Chromato-

gramme der Gewebshydrolysate bandenreicher sind als z.B. im Falle von Albumin- oder Erythrozytenmembranhydrolysaten. Zahlreiche Versuche mit verschiedenen Chromatographiersäulen (Machery & Nagel Nucleosil 5-C₁₈, Waters Radial Pak A , Waters μ -Bondapak C₁₈ und entsprechende Kombinationen als Doppelsäule) und Elutionsmitteln (0,6-1,2 mM H₃PO₄ unter Zusatz von unterschiedlichen Mengen Dibutylamin, Tetrabutylammoniumhydroxyd, Natriumheptansulfonat oder Natriumoctansulfonat mit und ohne zusätzliche Methanolzugabe) führten schließlich zu einem System mit brauchbarer Trennleistung: die Machery & Nagel Säule Nucleosil 5-C₁₈ mit einem Elutionspuffer, bestehend aus 1,2 mM H₃PO₄ und 120 μ M Natriumheptansulfonsäure (Heptansulfonsäure, Natriumsalz, reinst, Fa. Serva, Heidelberg). Ausgenutzt wurde hierbei das Prinzip der Ionenpaarchromatographie: die Base Furosin bildet mit dem hydrophoben Gegenion Heptansulfonat ein Ionenpaar, das in der hydrophoben, immobilen C₁₈-Phase der Chromatographiersäule selektiv länger zurückgehalten wird.

2.5) Identifizierung der Meßgröße Furosin in den Chromatogrammen

Folgende Kriterien erlaubten einen sicheren Nachweis des Furosinpeaks in den Chromatogrammen:

- a) die Retentionszeit: die Retentionszeit des Furosins aus Gewebehydrolysat stimmte mit der Retentionszeit eines Furosinstandards (gewonnen durch Hydrolyse von Fructoselysin) oder einem durch Hydrolyse von Glukosylalbumin gewonnenen Standard überein.
- b) das Absorptionsverhältnis $A(280\text{nm})/A(254\text{nm})$: dieser Quotient beträgt für Furosin 3,8
- c) die Reduktionsprobe: vor der salzsauren Hydrolyse der Gewebeproben läßt sich die Ketogruppe des ϵ -D-Fructoselysins mit NaBH_4 in schwach alkalischem Milieu zum entsprechenden sekundären Alkohol reduzieren. Bei der nachfolgenden sauren Hydrolyse kann dann kein Furosin mehr entstehen, d.h., im sonst unveränderten Chromatogramm fehlt bei den reduzierten Proben der Furosinpeak. Vergleiche Abb.(4).
- d) in vitro Glukosylierung der Gewebe: abhängig von Inkubationsdauer und Glucosekonzentration erhöhte sich nur der Furosinpeak.

2.6) Auswertung der Chromatogramme

Jeweils nach 3 Gewebshydrolysaten wurde ein Standard (gewonnen aus hydrolysiertem Standardalbumin

Abb.4a) typisches HPLC-Chromatogramm eines hydrolysierten Diabetiker-Albumins mit deutlichem Furosinpeak (Pfeil).

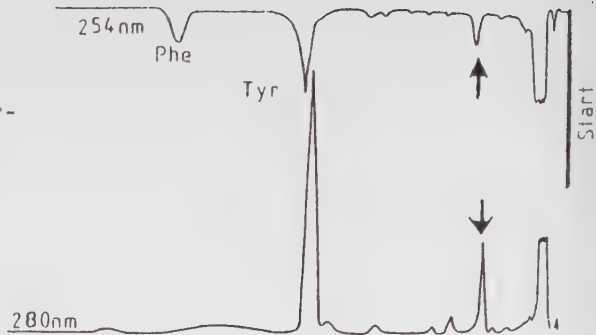


Abb.4b) typisches HPLC-Chromatogramm von hydrolysiertem Sehnenewebe (Pat.Nr.2) mit deutlichem Furosinpeak (Pfeil).

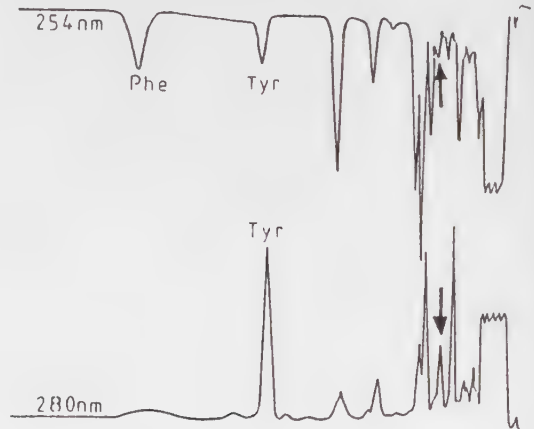
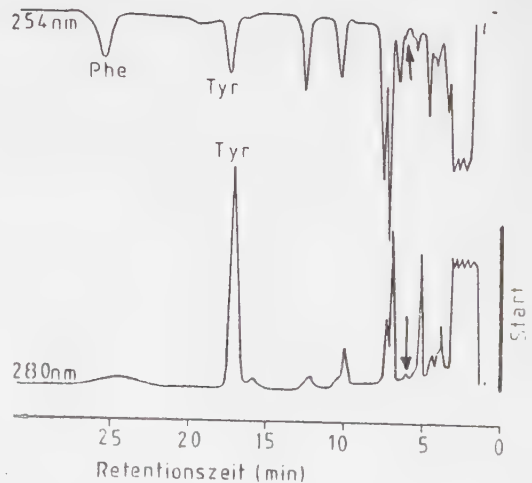


Abb.4c) Chromatogramm des gleichen Sehnenewebes wie in Abb.4b, jedoch nach NaBH_4 -Reduktion: der Furosinpeak (Pfeil) ist verschwunden.



oder dem Hydrolysat eines synthetischen Fructose-
lysinstandards) eingeschoben. Dies erleichterte
die Auffindung und quantitative Auswertung des Furosin-
peaks. Phenylalanin diente bei allen quantitativen
Furosinbestimmungen als interner Standard, das heißt:
es wurde bei allen Chromatogrammen das Absorptions-
verhältnis

$$\frac{A \text{ (Furosin, 280nm)}}{A \text{ (Phenylalanin, 254nm)}}$$

gebildet. Durch Vergleich dieses Absorptionsver-
hältnisses mit demjenigen des absoluten Fructose-
lysinstandards bekannter Furosin- und Phenylalanin-
konzentration ließ sich direkt die Menge an glukosy-
liertem Lysin,bezogen auf Phenylalanin, angeben. Es
ist wesentlich genauer, die Glukosylierung auf diesen
internen Phenylalaniningehalt zu beziehen als auf die
Substanzeinwaage, da unterschiedliche Hydratation der
meist in feuchtem Zustand (mit Ausnahme der glomeru-
lären Basalmembran und des Lungenbindegewebes) ein-
gewogenen Proben so keinen Einfluß hat. Es erwies
sich auch als vorteilhafter, die Glukosylierung auf
Phenylalanin und nicht auf das ebenfalls im UV ab-
sorbierende Tyrosin zu beziehen, da Phenylalanin bei
der Hydrolyse beständiger ist. Insbesondere bei der
Hydrolyse einiger Nervengewebsproben ging Tyrosin
aus bisher unbekannten Gründen nahezu quantitativ

verloren, während bei Phenylalanin keine Verluste festgestellt wurden. Angaben über die Glukosylierung pro mg Feuchtgewebe bzw. Trockengewebe sind möglich, wenn man für alle Gewebe den durchschnittlichen Phenylalanin-gehalt pro mg Einwaage an Hand der HPLC-Peaks bestimmt. Entsprechende Angaben werden in Tab.(3) für Nichtdiabetiker, leichte Diabetiker und Diabetiker gemacht.

Tab.3 →→→

Mittlerer Phenylalaniningehalt
der verschiedenen Gewebe bei
Nichtdiabetikern, leichten
Diabetikern und Diabetikern.
Die hohen Fallzahlen n bei den
Aortenproben kommen dadurch zu-
stande, daß von ein und dersel-
ben Aorta häufig mehrere Proben
aus unterschiedlichen Abschnit-
te entnommen wurden.

Gewebe	Nichtdiabetiker (ND)	leichte Diabetiker (LD)	Diabetiker (D)	Gesamtkollektiv
Sehnngewebe $\frac{\text{nMol Phe}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	(n=15) 22±9	(n=10) 19±7	(n=12) 20±11	(n=37) 20±10
Aortengewebe $\frac{\text{nMol Phe}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	(n=72) 22±11	(n=28) 21±9	(n=35) 22±15	(n=135) 22±14
Koronararterien $\frac{\text{nMol Phe}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	(n=10) 17±5	(n=5) 13±5	(n=4) 13±6	(n=19) 15±5
peripherer Nerv $\frac{\text{nMol Phe}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	(n=9) 13±5	(n=7) 14±6	(n=8) 10±6	(n=24) 12±6
Lungenbindegewebe $\frac{\text{nMol Phe}}{\text{mg Trockengewebe}}$	(n=10) 112±10	(n=6) 120±13	(n=5) 124±7	(n=21) 117±11

Der Tab.(3) kann man ferner entnehmen, daß kein signifikanter Unterschied im Phenylalaniningehalt obiger Gewebe zwischen Diabetikern und Nichtdiabetikern vorliegt. Für die glomeruläre Basalmembran war dies bereits bekannt, entsprechende Aminosäureanalysen wurden von mehreren Arbeitsgruppen durchgeführt (68-72). Damit ist bewiesen, daß ein erhöhter Lys-glu/Phe Quotient nicht auf einen veränderten Phenylalanin-gehalt der diabetischen Gewebe zurückzuführen ist.

2.7) Bestimmung des Blutgehaltes der Gewebeproben

Da die verschiedenen Blutbestandteile ebenfalls glukosyliert sind (vergl. Tab.1), ist es wichtig, den Blutgehalt der analysierten Proben zu kennen um zu beurteilen, welcher Anteil der gefundenen Lysin-gebundenen Glucose auf mitgemessene Blutbestandteile zurückzuführen ist. Der Hämoglobingehalt von Sehnen-, Aorten- und Nervenproben wurde nach der von Holzer et al. beschriebenen Methode (73) bestimmt: eine kleine Gewebeprobe (50-100mg) wurden mit der 11,5 fachen Menge 0,125%iger NaCl-Lösung homogenisiert, 20min stehengelassen und 15min hochtourig zentrifugiert, der Überstand dann abfiltriert (0,45µm Membranfilter, Fa. Millipore) und nochmals zentrifugiert und filtriert wie beschrie-

ben. 200 μ l des klaren Überstandes wurden mit 500 μ l Transformationslösung (0,6mM $K_3Fe(CN)_6$; 1,0mM KCN; 2,5mM Phosphatpuffer pH 7,2; 1,5mM NaCl; 0,05% Detergens) versetzt und die Extinktion bei 546nm im Eppendorf-Photometer gegen die Transformationslösung abgelesen. Bei dieser Verdünnung gilt für die Hb-Konzentration im Gewebe:

$$Hb\text{-Konzentration} = \Delta E \times 6,4 \text{ g Hb} / 100\text{ml Feuchtgewebe}$$

Legt man einen durchschnittlichen Hb-Gehalt von 15g / 100ml zugrunde, so errechnet man aus den gemessenen Extinktionen folgenden Blutgehalt der Gewebe:

Aorta	ca 1% Blutgehalt
peripherer Nerv	<0,1% Blutgehalt
Sehne	<0,1% Blutgehalt

Eine Korrektur auf den Blutgehalt erschien somit nicht erforderlich. Beim Lungenbindegewebe und der glomerulären Basalmembran erübrigt sich eine Blutbestimmung, da aufgrund der umfangreichen Aufarbeitung dieser Gewebe Blutfreiheit sichergestellt ist.

2.8) Statistische Auswertung

Um die unterschiedlichen Glukosylierungen in den drei Patientengruppen auf ihre Signifikanz zu überprüfen, wurde der verteilungsunabhängige einseitige U-Test

von Wilcoxon, Mann und Whitney angewandt(74). Wie aus den entsprechenden Auftragungen auf Wahrscheinlichkeitspapier hervorgeht (vergleiche Anhang), liegt annähernd Normalverteilung vor.

~

3) Ergebnisse

3.1) Nichtenzymatische Glukosylierung insulinse- tiver Gewebe am Beispiel von Herz- und Skelett- muskulatur

Je 15 Proben von Herz- und Skelettmuskulatur (davon je 9 Nichtdiabetiker, 4 leichte Diabetiker und 2 Diabetiker) wurden untersucht.

Ergebnis: bei allen Proben liegt der Glucoselysin-
gehalt unter der Nachweisgrenze, das heißt

$< 2.3 \text{ nMol Lys-glu}/\mu\text{Mol Phe}$

beziehungsweise $< 0.06 \text{ nMol Lys-glu}/\text{mg Feuchtgewebe}$

Die untere Nachweisgrenze bezieht sich hier speziell
auf die Untersuchung von Herz- und Skelettmuskulatur.

Bei diesen Geweben wurden nämlich bei einer dem Furosin-
peak entsprechenden Retentionszeit in den Chromato-
grammen kleine Peaks beobachtet, die auch nach Reduktion
mit NaBH_4 unverändert blieben, also kein Furosin sein
können. Es wäre jedoch denkbar, daß sich darunter ein
kleiner, nicht mehr nachweisbarer Furosinpeak verbirgt.
Nimmt man an, daß dieser unterlagerte, kleinere Furosin-
peak höchstens halb so groß ist wie der Gesamtpeak,
so kommt man zu der oben angegebenen Glucoselysin-
höchstmenge.

3.2) Nichtenzymatische Glukosylierung insulin- insensitiver Gewebe

Die Ergebnisse der nichtenzymatischen Glukosylierung von Sehnen-, Aorten-, Koronararterien- und Nervengewebe, von glomerulärer Basalmembran und Lungenbindegewebe sind in Abb.(5) dargestellt. Die Mittelwerte der NEG für die genannten Gewebe gehen aus Tab.(4) hervor. Nachdem die Werte annähernd normalverteilt sind (verl. Anhang 2), ist in Tab.(4) auch die jeweilige Standardabweichung angegeben. Die Einzelmeßwerte sind der Wertetabelle im Anhang1 (S.85) zu entnehmen. Außer den obengenannten, gründlicher untersuchten Geweben konnte stichprobenartig auch bei Knochen, Haut, Haaren und Fingernägeln eine NEG nachgewiesen werden. Dabei wurden für nichtdiabetische Patienten folgende Ergebnisse erzielt (n=Fallzahl): Hautgewebe (n=9) 39 nMol Lys-glu/ μ Mol Phe; Knochengewebe (n=3) 18nMol Lys-glu/ μ Mol Phe; Haare (n=1) 19 nMol Lys-glu/ μ Mol Phe und Fingernägel (n=1) 46 nMol Lys-glu/ μ Mol Phe. Haut- und Knochenglukosylierungen lagen bei diabetischen Patienten (n=3 bzw. n=2) durchschnittlich doppelt so hoch wie bei Nichtdiabetikern (die Glukosylierung von Fingernägeln und Haaren bei Diabetikern wurde nicht untersucht).

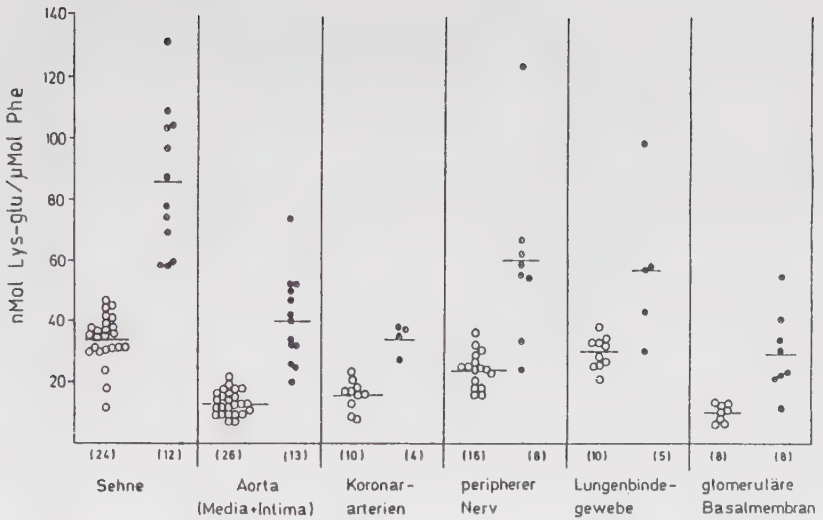


Abb.5 Nichtenzymatische Glukosylierung verschiedener Gewebe diabetischer (●) und nichtdiabetischer (○) Patienten. Der eingezeichnete Querstrich ist das jeweilige arithmetrische Mittel. Die Fallzahlen sind in Klammern angegeben. Die Gruppe der sog. "leichten Diabetiker" (LD) wurde hier der Übersichtlichkeit wegen nicht eingezeichnet.

Gewebe		Nicht- diabetiker (ND)	leichte Diabetiker (LD)	Diabetiker (D)
Sehnen- gewebe	n $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\mu\text{Mol Phe}}$ $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	24 34±8 0,8±0,2	13 43±10 1,1±0,2	12 86±24 2,1±0,6
Aorten- gewebe	n $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\mu\text{Mol Phe}}$ $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	26 13±3 0,4±0,1	13 20±6 0,6±0,2	13 40±15 1,1±0,4
Koronar- arterien- gewebe	n $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\mu\text{Mol Phe}}$ $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	10 16±5 0,3±0,1	5 17±4 0,3±0,1	4 34±5 0,6±0,1
peripheres Nerven- gewebe	n $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\mu\text{Mol Phe}}$ $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\text{mg Feuchtgewebe}}$	16 24±6 0,4±0,1	7 30±11 0,5±0,2	8 60±30 0,9±0,5
glomeruläre Basal- membran	n $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\mu\text{Mol Phe}}$ $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\text{mg Trockengewebe}}$	8 10±2 0,8±0,2	4 15±3 1,2±0,2	8 29±14 2,4±1,1
Lungen- parenchym- bindegewebe	n $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\mu\text{Mol Phe}}$ $\frac{\text{nMol Lys-glu}}{\text{mg Trockengewebe}}$	10 30±5 4,3±0,7	6 31±5 4,3±0,6	5 57±26 8,3±3,8

Tab.4 Mittelwerte ± Standardabweichung der NEG insulin-
insensitiver Gewebe für Nichtdiabetiker, Diabetiker
und leichte Diabetiker; n = Zahl der untersuchten
Proben von verschiedenen Patienten.

Wie aus Abb.(5) und Tab.(4) hervorgeht, sind alle Gewebe dieser Gruppe bei Diabetikern 2-3 mal so hoch glukosyliert wie bei Nichtdiabetikern. Dieser Unterschied ist für alle Gewebe hochsignifikant ($\alpha < 0.005$). Dagegen liegt die Glukosylierung in der Gruppe der leichten Diabetiker nur insignifikant über dem bei Nichtdiabetikern gefundenen Wert.

Die Werte der NEG bei Diabetikern streuen erwartungsgemäß stärker als bei den entsprechenden nichtdiabetischen Proben - siehe Abb.(5) und Tab.(4). Darin drückt sich die individuell unterschiedlich gute Stoffwechseleinstellung der Patienten aus. Dies zeigt auch die gute lineare Korrelation der NEG verschiedener Gewebe untereinander bei ein und demselben Patienten. Eine solche Korrelation zwischen der NEG der Aorta und der NEG der Sehne ist in Abb.(6) dargestellt. Die Werte für Sehne bzw. Aorta korrelieren ebenso gut mit dem Glukosylierungsgrad der anderen Gewebe, wobei die Korrelationskoeffizienten zwischen 0.84 und 0.94 liegen, mit Ausnahme eines niedrigeren Wertes (0.68) für die glomeruläre Basalmembran - vergl. Tab.(5). Der Einfluß der Stoffwechseleinstellung auf das Ausmaß der Glukosylierung geht insbesondere aus Abb.(7) und Abb.(8) hervor. Hier ist die NEG der Aorta bez. der Sehne gegen den mittleren Blutzuckerspiegel der Patienten aufgetragen.

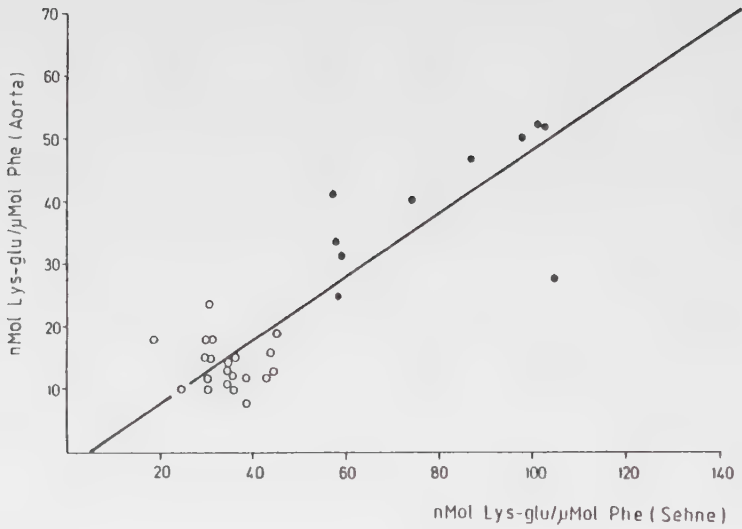


Abb.6 Korrelation der nichtenzymatischen Sehnen-glukosylierung mit der Aortenglukosylierung diabetischer (●) und nichtdiabetischer (○) Patienten.

	Sehne			Aorta		
	ND (n)	D (n)	r	ND (n)	D (n)	r
Aorta	21	13	0.89	--	--	--
Koronar- arterien	9	4	0.93	9	4	0.87
peripher. Nerv	11	8	0.91	12	8	0.91
glomeru- läre BM	6	8	0.67	8	8	0.68
Lungen- bindege- webe	9	5	0.94	9	5	0.84

Tab.5 Lineare Korrelation der NEG von Sehnen- und Aortengewebe mit der NEG der anderen untersuchten Gewebe nichtdiabetischer und diabetischer Patienten.

r = Korrelationskoeffizient

n = Zahl der Wertepaare verschiedener Patienten

In Abb.(7) und Abb.(8) fällt auf, daß die Probe No.39 viel geringer glukosyliert ist als dem hohen mittleren Blutzuckerspiegel von 600mg/dl entspricht. Als Ursache ist anzunehmen, daß der hohe Blutzucker der Patientin No.39 erst relativ kurze Zeit bestand. Tatsächlich wurde die Patientin im ketoacidotischen, hyperglykämischen Koma vom Notarzt mit einem Blutzucker von 692mg/dl eingewiesen. 7 bis 9 Wochen zuvor war die Patientin schon einmal zur Neueinstellung ihres Diabetes in der Klinik. Damals wurden lediglich Blutzuckerwerte von anfangs um 300mg/dl und bei der Entlassung von bis zu 200mg/dl gemessen. Die postmortale Bestimmung der Glukosylierung von Aorten- und Sehnengewebe dieser Patientin würde einem mittleren Blutzuckerspiegel in den letzten Wochen von ca. 400mg/dl entsprechen.

Umgekehrt liegt der Fall bei der Patientin No.29. Hier ergab die Krankengeschichte, daß die Patientin zwei Jahre vor ihrem Tode wegen eines entgleisten Diabetes mit Blutzuckerwerten bis zu 700mg/dl in stationärer Behandlung war. Die jetzt gemessene postmortale NEG des Sehnen- und Aortengewebes dieser Patientin entspricht dagegen dem mittleren Blutzucker der letzten Zeit von ca. 190mg/dl.

Aus beiden Fällen kann man folgern, daß die mittlere Halbwertszeit von Sehnen- und Aortengewebe deutlich unter 2Jahren liegt - wahrscheinlich in der Größenordnung von einigen Wochen bis wenigen Monaten. Auch

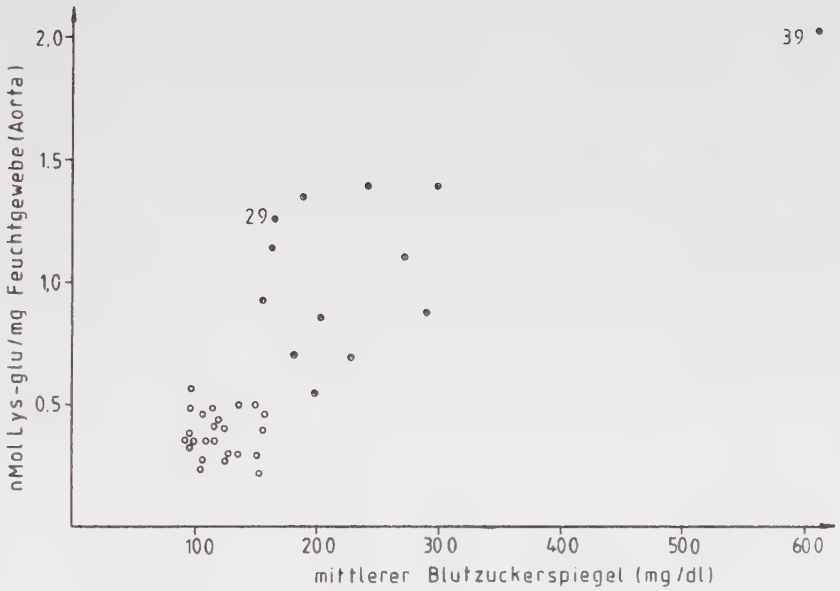


Abb.7 Abhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosylierung des Aortengewebes vom mittleren Blutzuckerspiegel diabetischer (●) und nichtdiabetischer (○) Patienten.

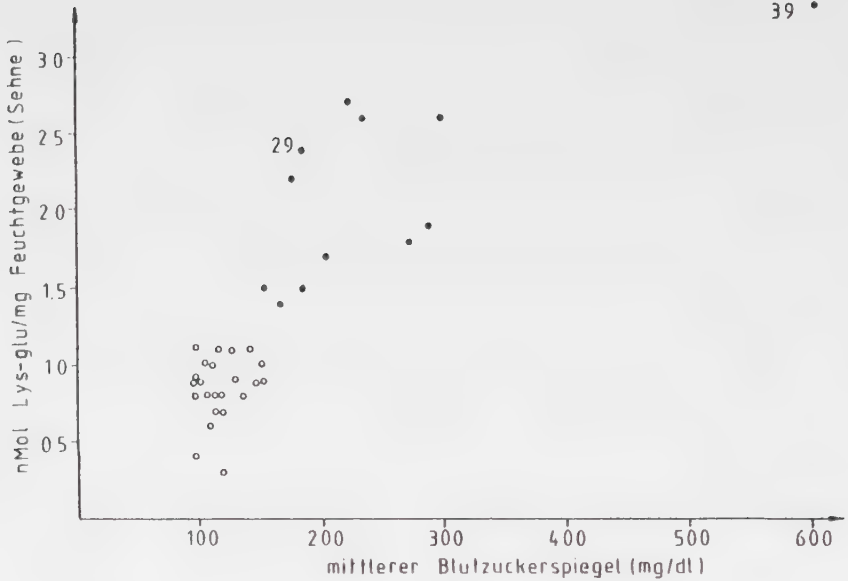


Abb.8 Abhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosylierung
des Sehnengewebes vom mittleren Blutzuckerspiegel
diabetischer (•) und nichtdiabetischer (o) Patienten.

die fehlende Abhängigkeit der gemessenen NEG von der Dauer des Diabetes und der Befund, daß Aorta und Sehne eines 8 Wochen alten Säuglinges genauso hoch glukosyliert sein können wie bei einem 80-jährigen Nichtdiabetiker sprechen für diese Schlußfolgerung. Sie paßt auch zu den in der Literatur angegebenen Halbwertszeiten für Kollagen. Sie beträgt für Gewebe mit Zellerneuerung bei Säugetieren 60 bis 300 Tage (75), und zwar je nach Organ für Leber- und Muskelkollagen 30 bis 60 Tage und für Aortenkollagen bis zu 300 Tage (76).

3.3) Abhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosylierung von der Dauer des Diabetes

Hierzu wurde die NEG von Sehnengewebe und Aortengewebe gegen die Diabetesdauer aufgetragen - siehe Abb.(9). Diese Zeit variierte von 1 bis 30 Jahren. Zum Vergleich ist in Abb.(9) auch die durchschnittliche NEG für das jeweilige Gewebe eines Nichtdiabetikers eingetragen. Es besteht kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen der Diabetesdauer und der Höhe der NEG. Auch der einzige Typ I - Diabetiker in der vorliegenden Arbeit fällt nicht durch eine übermäßige Glukosylierung auf. Das kann man damit erklären, daß bei dem vorliegenden Probenkollektiv die Zeit, seit der ein manifester Diabetes besteht (1-30 Jahre), lang ist verglichen mit der durchschnittlichen Halbwertszeit der betreffenden Gewebebestandteile von Sehnen- und Aortengewebe. Es hat sich deshalb schon ein neuer Gleichgewichtszustand der Glukosylierung ausbilden können. Aus der Tatsache, daß sich die NEG bei den Diabetikern auf ein gegenüber den Nichtdiabetikern zwar erhöhtes, jedoch von der Dauer der Diabeteserkrankung unabhängiges Niveau einpendelt, könnte man schließen, daß die Diabetesdauer auf die durchschnittliche Halbwertszeit von Sehnen- und Aorten-

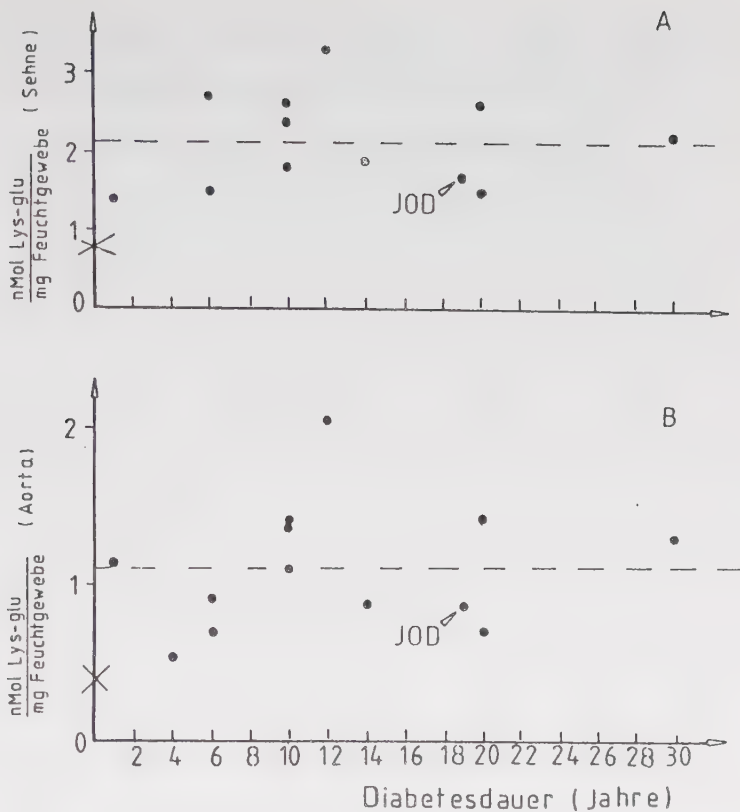


Abb.9 Abhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosylierung der Sehne (A) und der Aorta (B) von der Diabetesdauer. Ein-gezeichnet sind ferner die durchschnittliche Glukosylierung von Sehne bzw. Aorta der Nichtdiabetiker (X). Mit "JOD" ist der einzige TypI - Diabetiker der vor-liegenden Untersuchung gekennzeichnet.

gewebe keinen Einfluß hat. Dies ist insofern von Bedeutung, als für die Ursache der diabetischen Spätkomplikationen auch eine veränderte Homöostase zwischen Gewebsabbau und Wiederaufbau infolge der Glukosylierung diskutiert wird (17). Diese Hypothese kann durch die vorliegenden Meßergebnisse nicht gestützt werden.

3.4) Abhängigkeit der NEG nichtdiabetischer Patienten
vom Lebensalter - ist die NEG eine mögliche
Ursache für menschliche Alterungsprozesse?

Nachdem man bis heute davon ausgehen muß, daß die NEG ein irreversibler Prozeß ist und ferner die extrazellulär vorliegenden Bindegewebsproteine Kollagen und Elastin eine im Körper überdurchschnittlich lange Halbwertszeit haben, liegt der Gedanke nahe, die NEG für die physiologischen Alterungsprozesse verantwortlich zu machen. Diese Hypothese wurde daher auch schon verschiedentlich geäußert (z.B. (77,78)).

Die NEG von Sehnen- und Aortengewebe sowie der dazugehörige mittlere Blutzucker von 13 weiblichen und 14 männlichen nichtdiabetischen Patienten im Alter von 8 Wochen bis 89 Jahren sind in Abb.(10) gegen das jeweilige Lebensalter aufgetragen. Das Ergebnis dieser Auftragung kann man wie folgt zusammenfassen:

- a) Ein geschlechtsspezifischer Unterschied in der NEG und im mittleren Blutzuckerspiegel besteht erwartungsgemäß nicht. Der mittlere Blutzucker liegt in beiden Fällen um 120mg/dl, die Sehnen-glukosylierung entsprechend bei 0.8 nMol Lys-glu/mg Feuchtgewebe und die Aortenglukosylierung bei 0.4 nMol Lys-glu/mg Feuchtgewebe.
- b) Die NEG von Sehnen- und Aortengewebe nimmt mit dem Lebensalter nur sehr gering zu. Errechnet

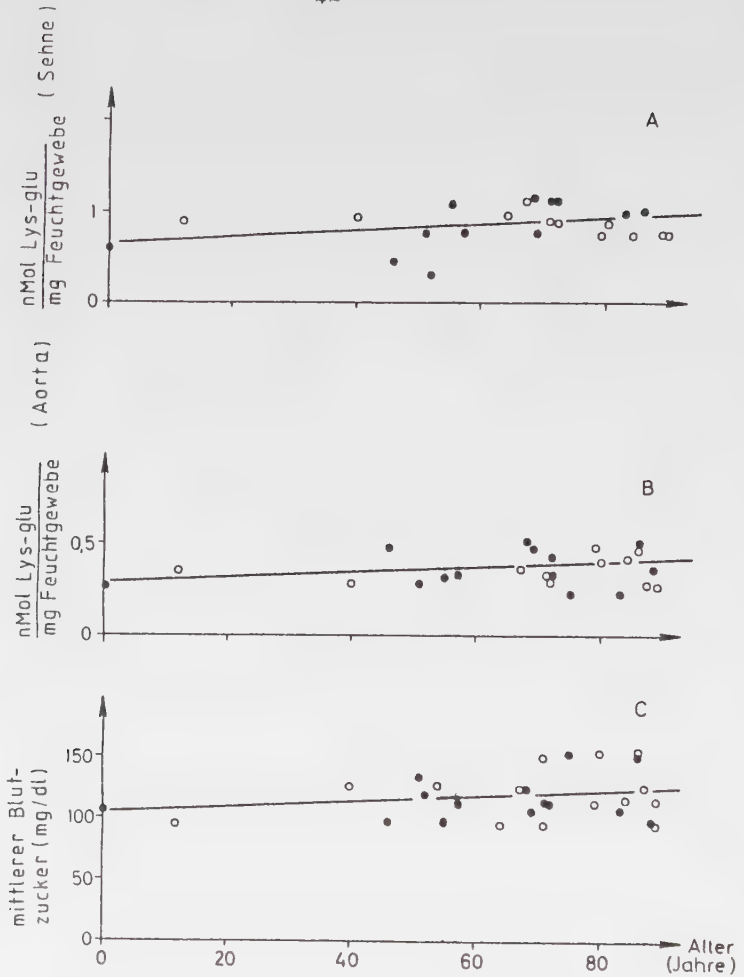


Abb.10 Altersabhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosylierung des Sehngewebes (A) und des Aortengewebes (B) sowie des mittleren Blutzuckerspiegels(C) nichtdiabetischer Patienten (● = männlich; ○ = weiblich)

man eine lineare Regressionsgerade, so läge bei einem 80-jährigen die Aortenglukosylierung durchschnittlich um 29% und die Sehnenglukosylierung um 50% über derjenigen eines Neugeborenen. Die individuellen Schwankungen sind dabei sehr groß, ein Säugling kann die gleiche NEG haben wie ein 80-jähriger.

- c) Zumindest ein Teil der höheren NEG dürfte im vorliegenden Kollektiv auf den mit dem Lebensalter ansteigenden mittleren Blutzuckerspiegel zurückzuführen sein: dieser liegt hier bei einem 80-jährigen um durchschnittlich 20% höher als bei einem Säugling.

Schnider und Kohn (46,48) fanden demgegenüber eine viel ausgeprägtere Altersabhängigkeit der Glukosylierung, die sie in der säureunlöslichen Kollagenfraktion aus Sehnen- und Hautgewebe bestimmten. Dieser Arbeit zufolge ist Sehnenkollagen eines 90-jährigen durchschnittlich 2.5 mal so hoch glukosyliert wie bei einem 18-jährigen, Hautkollagen immerhin 1.7 mal so hoch.

Wie ist diese Diskrepanz zur hier vorliegenden Arbeit zu erklären? Dabei mag eine Rolle spielen, daß Schnider und Kohn speziell die säureunlösliche Kollagenfraktion untersuchten, also denjenigen Gewebeteil, der zusammen mit Elastin und Linsenproteinen die höchste

Verweilzeit im Körper haben dürfte. Es könnte jedoch auch die unterschiedliche Analytik eine Rolle spielen. Schnider und Kohn bestimmten die Glukosylierung mit der weniger spezifischen HMF - Methode, bei der, wie bereits in der Einleitung ausgeführt, auch enzymatisch gebundene Kohlenhydrate mitgemessen werden. Dagegen ist die in der vorliegenden Arbeit angewandte Furosinbestimmung spezifisch für die NEG des Lysins.

Eine höhere NEG im Alter könnte sowohl durch eine geringere Umsatzrate der betreffenden Proteine im alternden Organismus verursacht sein als auch, bei sehr langlebigen Geweben mit praktisch keiner Erneuerung (Elastin?), durch die mit dem Lebensalter vorgegebenen längeren Glucoseinkubationszeiten.

Eine solche Altersabhängigkeit der NEG wäre besonders für das Linsenkristallin zu erwarten, denn diese Proteine unterliegen während der ganzen Lebensspanne des Individuums keiner Erneuerung (79).

Tatsächlich konnten Chiou et al. (55) bei verschiedenen Linsenkristallinfraktionen bei 6 Jahre alten Rindern eine doppelt so hohe Glukosylierung messen als bei zweijährigen Rindern. Inwieweit diesem Befund allerdings eine praktische Bedeutung zur pathobiochemischen Erklärung der Kataraktbildung zukommt, bleibt abzuwarten: Pande et al. (57) konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Kataraktbildung und der Höhe der NEG finden.

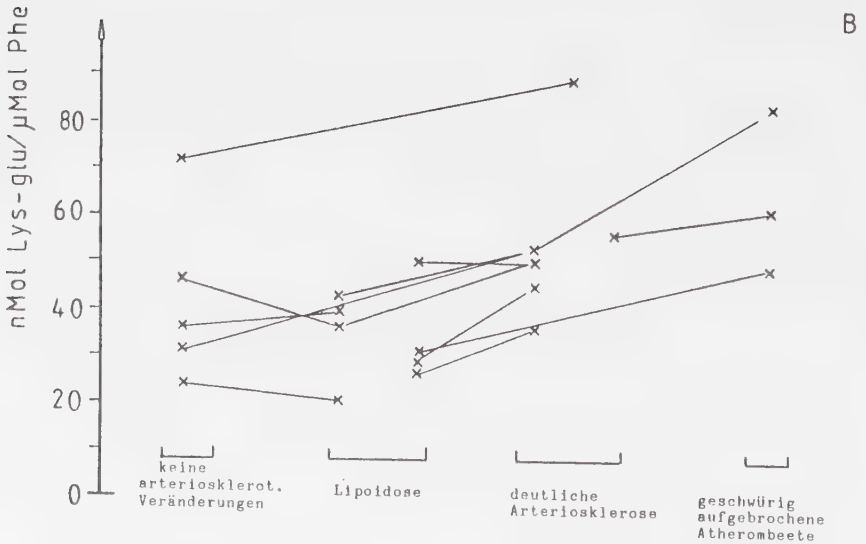
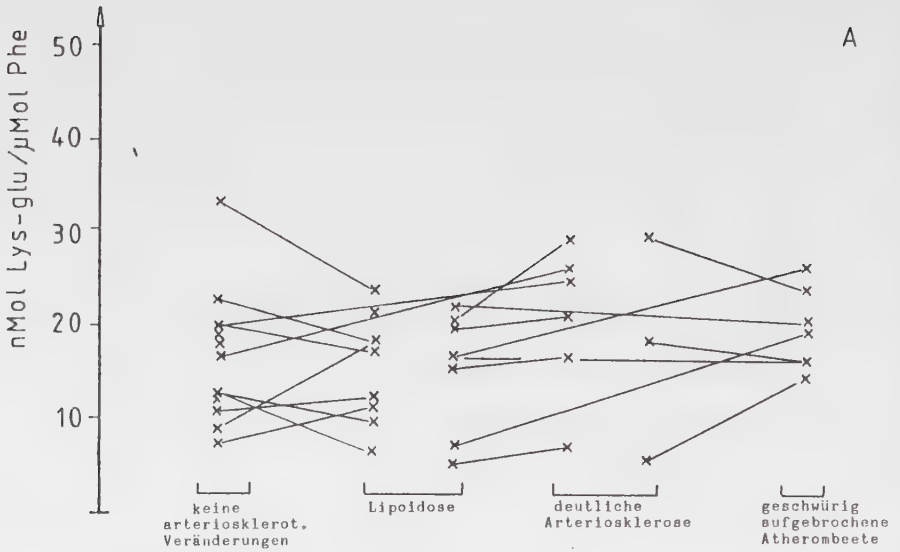
3.5) Arteriosklerose und die NEG der Aorta

Es wurde untersucht, ob die Höhe der Glukosylierung ein und derselben Aorta in Beziehung zum Ausmaß der Arteriosklerose des untersuchten Gewebsabschnittes gesetzt werden kann. Hierzu wurde die NEG von benachbarten, unterschiedlich stark arteriosklerotisch veränderten Aortenabschnitten gemessen und für Nichtdiabetiker bzw. für Diabetiker in Abb.(11) dargestellt. Die Gewebeproben wurden dabei je nach Ausmaß der Arteriosklerose in 4 Gruppen eingeteilt:

- a) Abschnitte ohne makroskopisch sichtbaren arteriosklerotischen Veränderungen
- b) Abschnitte mit makroskopisch sichtbaren gelben Lipideinlagerungen (Lipoidose)
- c) Abschnitte mit schwerer Arteriosklerose
- d) atheromatös-geschwürig aufgebrochene Abschnitte

Während in Abb.(11a) bei den Nichtdiabetikern die Glukosylierung der Aorta unabhängig von der Ausdehnung der Arteriosklerose ist, deutet in Abb.(11b) einiges darauf hin, daß bei den Diabetikern die NEG in den stark arteriosklerotischen Gefäßabschnitten höher liegt als in den weniger oder nicht arteriosklerotischen Abschnitten des gleichen Patienten.

Um endgültige Aussagen über diesen Punkt zu machen reicht das vorhandene Zahlenmaterial nicht aus. Man



könnte sich aber vorstellen, daß es in arteriosklerotischen diabetischen Plaques entweder infolge reduzierter Gewebserneuerung oder eines erhöhten Einbaues von relativ langlebigem Kollagen zu erhöhtem Einbau von Glucose kommt.

+ + + Abb.11 Abhängigkeit der nichtenzymatischen Glukosylierung des Aortengewebes vom Ausmaß der arteriosklerotischen Veränderungen für Nichtdiabetiker (11a) und Diabetiker (11b). Mit durchgezogenen Strichen verbunden sind jeweils Proben unterschiedlich ausgeprägter Arteriosklerose desselben Patienten.

4) Diskussion

4.1) Die NEG bei insulinabhängigen und insulinunabhängigen Geweben

In der vorliegenden Untersuchung konnte in Herz- und Skelettmuskulatur keine meßbare NEG gefunden werden. Da die Glucoseaufnahme bei diesen Zellen ebenso wie bei den Fettzellen insulin sensitiv ist, folgt in diesen Geweben der intrazelluläre Glucosespiegel nicht dem Serumglucosespiegel. Dies ist dagegen der Fall bei allen anderen untersuchten Geweben, bei denen die Glucoseaufnahme in die Zelle insulinunabhängig verläuft. Diese Gewebszellen sowie die extrazellulär vorliegenden Bindegewebsproteine sind dem Serumglucose Spiegel ausgesetzt. Entsprechend wurden in diesen Geweben nichtenzymatische Glukosylierungen gemessen, die mit dem mittleren Serumglucosespiegel des Patienten positiv korrelierten.

Interessant in diesem Zusammenhang ist auch der Unterschied, der in der Glukosylierung peripherer Nerven und der Medulla oblongata gefunden wurde: die NEG der Medulla oblongata betrug durchschnittlich nur 40% des im peripheren Nerven gemessenen Wertes. Dies könnte durch den unterschiedlichen Glucosegehalt dieser Gewebe erklärt werden, der nach Gabbay (81) für Hirn-

gewebe nichtdiabetischer Ratten $1\mu\text{Mol Glucose/g Naßge-}$
wicht und für peripheres Nervengewebe entsprechend
 $2,5\ \mu\text{Mol Glucose/g Naßgewicht}$ beträgt.

Dagegen ergaben einige Stichproben erwartungsgemäß keine
signifikanten Unterschiede in der Glukosylierung ver-
schiedener peripherer Nerven (N. lingualis, N. femoralis,
N. ischiaticus) sowie auch verschiedener Sehnen (aus
dem Zungenschlundpaket bzw. der Beinmuskulatur)

4.2) Vergleich mit der NEG von Albumin und Abschätzung des Anteils an glukosyliertem Lysin

Die in der vorliegenden Arbeit gemessene NEG für insulin-
insensitive Gewebe liegt in etwa der gleichen Größen-
ordnung wie sie für Albumin gefunden wurde (6). Letztere
beträgt beim Nichtdiabetiker ca. $3,6\ \text{nMol Lys-glu/mg}$
Trockengewicht, das heißt jedes vierte Albuminmolekül
(Molekulargewicht 67 000) liegt beim Nichtdiabetiker
glukosyliert vor. Bei einem Gehalt von 56 Lysinen pro
Albuminmolekül bedeutet dies, daß beim Nichtdiabetiker
etwa 0,5% aller Lysinreste glukosyliert sind, beim Dia-
betiker entsprechend der Stoffwechseleinstellung mehr.
Wieviele der ϵ - Lysinseitengruppen sind nun bei den hier
untersuchten Geweben etwa glukosyliert? Um diese Frage
beantworten zu können, müßte man die Aminosäurezusammen-
setzung der verschiedenen analysierten Gewebeproben
kennen. Im Falle der glomerulären Basalmembran ist diese

bekannt: je nach zugrundegelegter Literatur (68-72) gibt es im Basalmembrankollagen pro 1000 Aminosäuren 20 - 30 Lysine und 26 - 32 Phenylalanine, wobei das Lys/Phe - Verhältnis zwischen Diabetikern und Nichtdiabetikern um höchstens 20% abweicht. Rein rechnerisch liegen demnach bei den Nichtdiabetikern ca. 1,2% aller Lysinseitengruppen der glomerulären Basalmembran glukosyliert vor, bei den Diabetikern sollten es entsprechend 3,2% sein. Ein ähnliches Ergebnis erhält man, wenn man für Sehnen- bzw. Lungengewebe annimmt, daß die Hauptkomponente dieser Gewebe Kollagen ist. Kollagene verschiedenen Ursprungs haben praktisch gleichen Phenylalanin- und Lysingehalt: pro 1000 Aminosäuren 25 Phenylalanine und 54 Lysine (82). Dem entspräche eine Glukosylierung von 1,5% aller Lysinseitengruppen - bei Diabetikern entsprechend mehr.

Auch für die anderen untersuchten Gewebe, bei denen die Glucoseaufnahme in die Zelle insulinunabhängig verläuft, dürfte die Glukosylierung pro Lysingruppe in der gleichen Größenordnung liegen.

Interessant in diesem Zusammenhang ist auch ein Vergleich mit der NEG des Linsenkrystallins, die nach Pande et al. ebenfalls zwischen 1.5% und 3.5% liegt(57). Daß die NEG trotz der hohen Lebensdauer der Linsenkrystallinproteine nicht höher liegt, hängt sicherlich mit dem Glucosespiegel zusammen, dem diese Proteine ausgesetzt sind, und

der nur $1/4$ bis $1/6$ des Serumglucosespiegels beträgt(55).

4.3) Mögliche Bedeutung der NEG für die Pathogenese der diabetischen Spätkomplikationen

Es fällt auf, daß besonders denjenigen Geweben und Proteinen bei der Pathogenese des Diabetes mellitus eine besondere Bedeutung zukommt, welche direkt einem hohen Glucosespiegel ausgesetzt sind und somit auch relativ hoch nichtenzymatisch glukosyliert sind. Dies gilt für alle extrazellulär vorliegenden Proteine (Plasmaproteine, Kollagen, Elastin, Linsenkristallin) ebenso wie für die intrazellulär vorliegenden Proteine derjenigen Zellen, deren Glucoseaufnahme insulinunabhängig verläuft. Dagegen sind die intrazellulären Proteine derjenigen Zellen, die für die Aufnahme von Glucose Insulin benötigen, also vor allem Muskel- und Fettzellen, von besonders niederen Glucosespiegeln umgeben und spielen wahrscheinlich für die Pathogenese des Diabetes mellitus keine Rolle.

Es stellt sich daher die Frage, ob die höhere Glukosylierung der erstgenannten Gewebe und Proteine mit den auftretenden Spätkomplikationen in ursächlichem Zusammenhang steht. Einen solchen Zusammenhang schlüssig zu beweisen ist sehr schwierig, jedoch soll im Folgenden versucht werden, einige Hinweise dafür zu geben.

Man muß dabei bedenken, daß die NEG hauptsächlich an den freien ϵ -Aminogruppen des Lysins abläuft (und nur dieser Anteil der NEG wurde hier auch gemessen) und daß diese physiologischerweise meist protoniert vorliegenden Lysinreste von essentieller Bedeutung in den aktiven Zentren zahlreicher Enzyme, Ionentransportkanälen, etc. sind. Daß deren Funktion durch kovalente Bindung eines relativ großen Glucoserestes tiefgreifend beeinflußt wird, ist also gut vorstellbar.

Experimentell schon länger nachgewiesen ist z.B., daß sich die Sauerstoffbindungskapazität des Hämoglobinmoleküls mit der NEG am N-terminalen Valin der β -Kette ändert (14). Auch die Hemmung eines Enzyms, nämlich der N-Acetyl- β -Glucosaminidase, durch kovalenten Einbau von Glucose in das Enzymprotein wurde beschrieben(83). Umgekehrt steigt die Aktivität der Leber - Alkoholdehydrogenase durch Glukosylierung des Lysinrestes Nr.315 (84). Durch in vitro Glukosylierung von Insulin ändert sich dessen biologische Aktivität: so wurden eine verringerte Glucoseoxidation, eine vermehrte Fettneubildung und reduzierte antilipolytische Eigenschaften des glukosylierten Insulins beschrieben(85).

Williams et al. (18) fanden einen Unterschied im physiologischen Verhalten von glukosyliertem und nichtglukosyliertem Albumin. Die Endothelzellen der Mikrogefäße

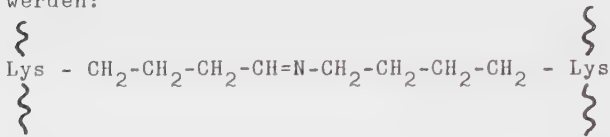
nahmen glukosyliertes Albumin mittels Mikropinozytose auf, nicht dagegen unglukosyliertes Albumin.

Chavers et al. (22) fanden bei Diabetikern eine stark erhöhte Albumineinlagerung in die kleinen Gefäße der Haut, jedoch ohne die Glukosylierung dieses Albumins zu messen.

Gonen et al. (29) und Witztum et al. (28) wiesen auf das physiologisch andersartige Verhalten glukosylierter Lipoproteine hin. Sie glukosylierten in vitro Low-Density-Lipoproteine (LDL) und fanden, daß LDL-Aufnahme und -Abbau durch Fibroblasten bei den glukosylierten Spezies signifikant erniedrigt waren, wobei dieser Effekt umso ausgeprägter war, je höher die NEG lag. Da bei Diabetikern tatsächlich eine erhöhte LDL - Glukosylierung vorliegt (27,28), spielt diese für die Pathogenese der diabetischen Mikro- und Makroangiopathie zusammen mit der beschleunigten HDL - Katabolisierung (32) möglicherweise eine entscheidende Rolle.

Schleicher et al. (37) fanden bei den höher glukosylierten diabetischen Erythrozytenmembranen eine größere ADP - Durchlässigkeit in den Extrazellulärraum als bei den Erythrozytenmembranen von Nichtdiabetikern. Dieser Effekt könnte in der Pathogenese diabetischer Angiopathien ebenfalls eine Rolle spielen.

Im Falle der Bindegewebsproteine Kollagen und Elastin kann man ebenfalls erwarten, daß die postribosomale NEG auf die Funktion dieser Proteine Einfluß nimmt. Freie Lysingruppen sind nämlich für die Quervernetzung dieser Proteine von essentieller Bedeutung. So werden benachbarte Tropokollagenmoleküle in einer enzymatischen Reaktion durch Dehydrolysinonorleucinreste miteinander verbunden, wozu jeweils 2 freie Lysinreste benötigt werden:



Eine ähnliche Situation liegt im Strukturprotein Elastin vor. Für dessen elastische Eigenschaften sind wesentlich Desmosin und Isodesmosin verantwortlich. Diese beiden Aminosäuren entstehen letztlich jeweils aus 4 Lysinseitentgruppen und besorgen die Quervernetzung in elastischen Fasern. (Vergl. Abb. 12)

Diese Quervernetzung von Elastin und Kollagen ist nur möglich, wenn die benötigten Lysingruppen frei vorliegen - nach einer Glukosylierung stehen sie folglich für die Quervernetzung nicht mehr zur Verfügung und könnten somit Ursache einer ganzen Reihe von Anomalien sein, die bei Diabetikern beschrieben worden sind. So könnte die erhöhte Permeabilität der glomerulären Basalmembran bei der diabetischen Nephropathie durch eine glukosy-

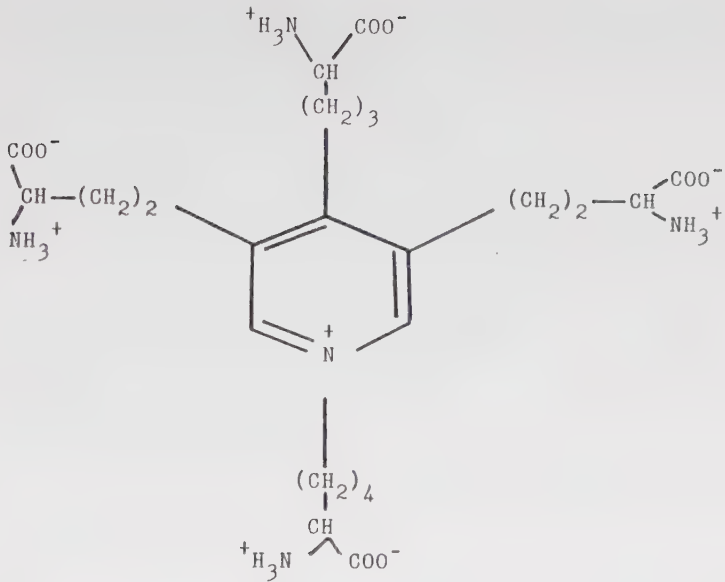


Abb.12 Strukturformel von Desmosin

In vivo liegen die 4 Amino- bzw. Carbonylgruppen nicht frei vor, sondern sind in das Peptidrückgrat der Eiweißketten integriert und führen somit zu der Quervernetzung der Elastinproteine.

lierungsbedingte veränderte Quervernetzung des Basalmembrankollagens verursacht sein (86). Erwähnt seien in diesem Zusammenhang ferner die reduzierte Lungenelastizität (87), die Steifheit der Aorta (88), die eingeschränkte Gelenkbeweglichkeit (51), eine wächserne Haut (47) und eine Zunahme des unlöslichen Kollagenanteils (46). Allerdings wurde nichtenzymatisch glukosyliertes Elastin bislang in der Literatur nicht beschrieben.

Daß die NEG der Nerven auf deren Leitungsgeschwindigkeit Einfluß nimmt, wäre vorstellbar. Vlassara et al. (53) verwiesen jüngst auf die Parallelen zwischen der diabetischen Polyneuropathie und einer zwecks Behandlung der Sichelzellanämie mit Isocyanat medikamentös ausgelösten, reversiblen Neuropathie. Letztere wird durch Carbamylierung der Lysinseitengruppen verursacht, also einer der NEG analogen Blockierung der Lysinreste (89,90). Ähnliche Neuropathien werden auch bei Urämikern beschrieben; bedingt durch deren hohen Harnstoffspiegel kann es ebenfalls zu Carbamylierungen kommen.

4.4) Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der diabetischen Spätschäden und der Höhe der NEG

Ist die NEG tatsächlich die Ursache zahlreicher diabetischer Spätkomplikationen, so sollte man auch einen Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der diabetischen Spätschäden und der Höhe der Glukosylierung finden. Das Ausmaß der Diabetesschäden wurde dabei nach einem Punktesystem wie folgt ausgewertet:

a) Makroangiopathie

Je nach dem Ausmaß der Makroangiopathie wurden 0 bis 3 Punkte vergeben. Die Einteilung erfolgte nach den arteriosklerotischen Veränderungen der Aorta und der großen Arterien laut Sektionsbericht; hinzutretende klinische Erscheinungsbilder (koronare Herzerkrankung, arterielle Verschlusskrankheit, Gangrän und Gliedmaßenamputationen) wurden mit einem Sonderpunkt berücksichtigt.

- s=0 keine bis mäßige, altersentsprechende
 Arteriosklerose
- s=1 mittelgradige Arteriosklerose
- s=2 schwere Arteriosklerose mit zahlreichen
 Intimaaufrissen
- s=3 Schwerste Arteriosklerose mit den dazugehörigen, oben aufgeführten schweren klinischen Erscheinungsbildern

b) Retinopathie

Die Einteilung der Retinopathie erfolgte nach dem ophtalmoskopischen Befund, dem üblicherweise die vierteilige Skala von Ballantyne zugrunde liegt. Entsprechend wurden s = 0,1,2,3 Punkte vergeben.

c) Neuropathie

Hier wurde unterschieden zwischen

s=0 unauffällig (o.B.)

s=1 Ausfall einiger Reflexe und geringgradige Empfindungsstörungen

s=2 eindeutige, klinisch beschriebene Polyneuropathie

d) Nephropathie

Hier wurde differenziert zwischen

s=0 keine klinischen oder pathologischen Hinweise auf Nephropathie

s=1 leichte diabetesbedingte, chronische Niereninsuffizienz (Serumkreatininwerte 1,5 - 6,4 mg/100ml) ohne eindeutiges pathologisch-anatomisches Korrelat

s=2 Niereninsuffizienz mit pathologisch-anatomisch gesicherter Glomerulosklerose

Durch Addition der entsprechenden Punktezahlen ergibt sich ein Index der Spätkomplikationen, der in Abb.(13) bzw. Abb.(14) gegen die NEG von Aorta bzw. Sehne aufge-

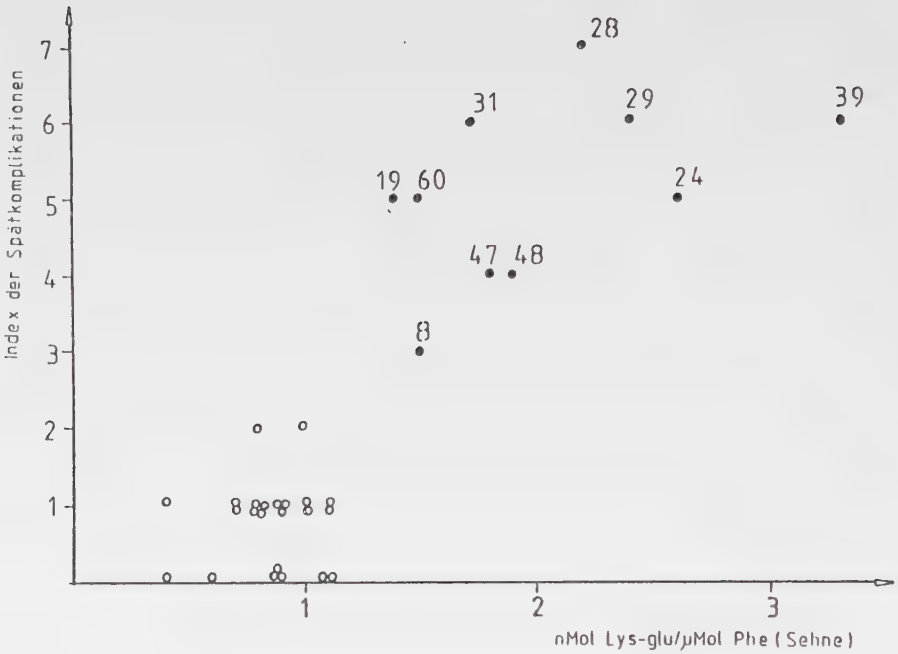


Abb. 14 Zusammenhang zwischen der nichtenzymatischen Glukosylierung des Sehnengewebes und dem Ausmaß der Spätkomplikationen diabetischer (•) und nichtdiabetischer (o) Patienten. Zur Definition des Spätkomplikationenindex vergl. S.57

Eingezeichnet sind ferner die jeweiligen Patientennummern der Wertetabelle von Anhang 1.

tragen ist. Demnach scheint ein positiver Zusammenhang zwischen der Glukosylierung und dem Ausmaß der Spätschäden zu bestehen. Wenn auch eine Kausalität dieses Zusammenhangs damit nicht bewiesen ist, so gehen auch klinische Erfahrungen in dieselbe Richtung: so ist bei Langzeitdiabetikern mit einer Diabetesdauer von mindestens 20 Jahren die Wahrscheinlichkeit, eine Nephropathie oder eine Retinopathie Grad III zu bekommen bei mäßiger bis schlechter Stoffwechseleinstellung rund 10 mal größer als bei guter bis sehr guter Einstellung (31-32% statt 3%) (1), die Mortalitätsrate bei schlechter Einstellung 2.5 mal so hoch wie bei guter Einstellung(91).

Um einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der NEG und den diabetischen Spätschäden sicher zu beweisen, müßte nach Wegen gesucht werden, die diabetischen Spätschäden besser quantifizierbar zu machen. Elektrophysiologische Untersuchungen über die Nervenleitungsgeschwindigkeit, die Messung der Elastizität von Sehnen vor und nach in vitro Glukosylierung und ähnliche Experimente könnten hierüber weiteren Aufschluß geben.

4.5) Mögliche Bedeutung der vorliegenden Arbeit für die forensische Medizin

Wie die Münchner Diabetesstudie (92) zeigte, kommt zu den 2% der Gesamtbevölkerung, von denen ein manifester Diabetes mellitus bekannt ist, noch eine Dunkelziffer von knapp 1% bisher nicht diagnostizierter Diabeteskranker hinzu. Dies läßt vermuten, daß ein unbekannter Diabetes für eine Reihe unklarer Todesfälle, wie z.B. ein diabetisches Koma, verantwortlich sein kann.

Die heute bekannten Methoden der postmortalen Diabetesdiagnostik genügen jedoch noch nicht in allen Fällen.

Die Pathologen können an Hand der mehr oder weniger typischen Spätkomplikationen, die zudem erst nach jahrelangem Krankheitsverlauf manifest werden, bestenfalls einen dahingehenden dringenden Verdacht äußern. Diabetesspezifische pathologische Veränderungen wie die Glomerulosklerose "Kimmelstiel-Wilson" treten höchstens bei einem Drittel aller seziierten Diabetiker auf (93).

In den meisten Fällen erfolgreicher dagegen ist eine von Traub beschriebene Methode zur Erkennung tödlicher Stoffwechselstörungen an der Leiche (94). Traub bestimmt aus dem Liquor cerebrospinalis den Glucose- und Milchsäurespiegel und summiert diese beiden Werte auf (sog. "Traub'scher Summenwert"). Diese Methode erlaubt es, bis zu einigen Tagen post mortem einen dekompensierten, tödlich verlaufenen Diabetes nachzuweisen.

Ferner wird neuerdings versucht, über die Messung der glukosylierten Hämoglobine (HbA_1) postmortal Rückschlüsse auf den Zuckerstoffwechsel zu ziehen(95). Ein Nachteil dieser Methode liegt jedoch in der relativ großen Streubreite der HbA_1 - Normalwerte (96), weshalb sich häufig nicht sicher zwischen Diabetikern und Nichtdiabetikern unterscheiden läßt (97). Demgegenüber sollte es nach der hier vorliegenden Arbeit möglich sein, durch die Messung der NEG von z.B. Sehnengewebe postmortal Rückschlüsse auf die Höhe des Blutzuckers der letzten Monate zu ziehen. Leichte Blutzuckererhöhungen nichtdiabetischen Ursprungs können zwar ebenfalls zu etwas erhöhten Glukosylierungen führen, jedoch war unter den hier untersuchten Proben keine einzige nichtdiabetische Hyperglykämie, deren Glukosylierung an den für Diabetiker gefundenen Mittelwert heranreichte. Zumindest einen relativ schlecht eingestellten Diabetes mit Blutzuckerwerten über etwa 200-250 mg/dl sollte man hiermit postmortal noch diagnostizieren können. Diese Methode sollte auch noch anwendbar sein, wenn aufgrund von längeren Liegezeiten der Leiche eine Bestimmung des Traub'schen Summenwertes oder auch eine HbA_{1c} -Bestimmung nicht mehr durchführbar ist. Da, wie an einigen Proben gezeigt werden konnte, auch Knochen nichtenzymatisch glukosyliert sind, wäre es interessant zu prüfen, ob auch noch an Skeletten ein Diabetes nachweisbar ist.

5) Zusammenfassung

Der Gehalt an ϵ -Amino-Lysingruppen-gebundener Glucose durch nichtenzymatische Glukosylierung (NEG) wurde mit einer spezifischen, HPLC-chromatographischen Methode in verschiedenen humanen Autopsieproben diabetischer und nichtdiabetischer Patienten gemessen.

Dabei wurden folgende Gewebe untersucht: Herz- und Skelettmuskulatur, Aorta, Koronararterien, Sehnen, glomeruläre Basalmembran der Niere, Lungenbindegewebe und peripheres Nervengewebe.

Die erhaltenen Meßergebnisse wurden durch die miterfaßten Daten aus der jeweiligen Krankengeschichte und dem Sektionsprotokoll ergänzt.

Es wurden folgende Ergebnisse erhalten:

- 1.) Im Muskel (Herz- und Skelettmuskel), bei dem die Glucoseaufnahme in die Muskelzelle insulininsensitiv verläuft, konnte weder bei Diabetikern noch bei Nichtdiabetikern eine meßbare nichtenzymatische Gewebsglukosylierung nachgewiesen werden.
- 2.) Dagegen konnte bei allen anderen genannten Geweben sowie bei Knochen, Haut, Haaren und Fingernägeln eine nichtenzymatische Glukosylierung gemessen werden.
- 3.) Die Höhe der Glukosylierung hängt vom mittleren Blutzuckerspiegel des Patienten ab. Bei Diabetikern liegt deshalb die Glukosylierung der untersuchten Gewebe je nach Stoffwechseleinstellung 2-3 mal höher

als bei Nichtdiabetikern. Größenordnungsmäßig beträgt sie bei Diabetikern einige wenige Prozent aller vorhandenen Lysingruppen.

- 4.) Die nichtenzymatischen Glukosylierungen von Sehnen- und Aortengewebe korrelieren gut untereinander sowie mit den anderen Geweben.
- 5.) Ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der nichtenzymatischen Glukosylierung und der Dauer des Diabetes bei langjährigem Diabetesleiden konnte nicht nachgewiesen werden.
- 6.) Die Zunahme der nichtenzymatischen Glukosylierung mit dem Lebensalter ist bei den untersuchten Proben (Aorten- und Sehnengewebe) kaum signifikant.
- 7.) Bei Diabetikern besteht ein positiver Zusammenhang zwischen der Höhe der nichtenzymatischen Glukosylierung und dem Ausmaß der eingetretenen Spätkomplikationen.
- 8.) Auf die mögliche Bedeutung der vorliegenden Arbeit in der forensischen Medizin zur postmortalen Diabetesdiagnostik wurde hingewiesen.

Literaturverzeichnis

1. N.R.Keiding, H.F.Root, A.Marble
Importance of control of diabetes in
prevention of vascular complications.
JAMA 150: 964-969 (1952)
2. J.Pirart
Diabetes mellitus and its degenerative
complications: a prospective study of
4400 patients observed between 1947-
1973.
Diabetes Care 1: 168-188 (1978)
3. M.Brownlee, A.Cerami
The biochemistry of complications of
diabetes mellitus.
Ann.Rev.Biochem. 50: 385-432 (1981)
4. T.K.Mayer, Z.R.Freedmann
Protein glycosylation in diabetes
mellitus: a review of measurements
and of their clinical utility.
Clin.Chim.Acta 127: 147-184 (1983)
5. O.H.Wieland
Protein modification by nonenzymatic
glucosylation; possible role in the
development of diabetic complications.
Mol.Cell.Endocrin. 29: 125-131 (1983)

6. E.Schleicher, O.H.Wieland

Specific quantitation by HPLC of
protein (lysine) bound glucose in
human serum albumin and other
glycosylated proteins.

J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 19: 81-87
(1981)

7. L.C.Maillard

Action des acides aminés sur les
sucres; formation des melanoidines
par voie méthodique.

C.R.Acad.Sci. 154: 66-68 (1912)

8. L.C.Maillard

Formation d'humus et des combustibles
minéraux sans intervention de l'oxygène
atmosphérique, des microorganismes, des
hautes températures, ou des fortes
pressions.

C.R.Acad.Sci. 155: 1554-1556 (1912)

9. M.Angrick, D.Rewicki

Die Maillard-Reaktion.

Chemie in unserer Zeit 14: 149-157 (1980)

10. J.E.Hodge, C.E.Rist

The Amadori rearrangement under new
conditions and its significance for
nonenzymatic browning reactions.

J.Am.Chem.Soc. 75: 316-322 (1953)

11. C.I.Neglia, H.J.Cohen, A.R.Garber, P.D.Ellis
S.R.Thorpe, J.W.Baynes
 ^{13}C NMR investigation of non-
enzymatic glucosylation of protein.
J.Biol.Chem. 258: 14279-14283 (1983)
12. W.R.Holmquist, W.A.Schröder
A new N-terminal blocking group
involving a Schiff base in hemoglobin
 $\text{A}_{1\text{c}}$.
Biochemistry 5: 2489-2503 (1966)
13. H.F.Bunn, D.N.Haney, K.H.Gabbay, P.M.Gallop
Further identification of the nature
and linkage of the carbohydrate in
hemoglobin $\text{A}_{1\text{c}}$.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 67: 103-109
(1975)
14. M.J.McDonald, M.Bleichman, H.F.Bunn
Functional properties of the glycosylated
minor components of human adult hemo-
globin.
J.Biol.Chem. 254: 702-707 (1979)
15. H.F.Bunn, R.W.Briehl
The interaction of 2,3 diphospho-
glycerate with various human hemoglobins.
J.Clin.Invest. 49: 1088-1095 (1970)

16. R.Dolhofer, O.H.Wieland
Glycosylation of serum albumin:
elevated glycosylalbumin in diabetic
patients.
FEBS Lett. 103: 282-286 (1979)
17. M.F.Day, S.R.Thorpe, J.W.Baynes
Nonenzymatically glucosylated albumin.
J.Biol.Chem. 254: 595-597 (1979)
18. S.K.Williams, J.J.Devenny, M.W.Bitensky
Micropinocytic ingestion of glycosylated
albumin by isolated microvessels:
possible role in pathogenesis of dia-
betic microangiopathy.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78: 2393-2397
(1981)
19. A.Ma, M.A.Naughton, D.P.Cameron
Glycosylated plasma protein: a simple
method for the elimination of inter-
ference by glucose in its estimation.
Clin.Chim.Acta 115: 111-117 (1981)
20. H.H.Parving
Increased microvascular permeability
to plasma proteins in short- and long-
term juvenile diabetics.
Diabetes 25 (Suppl.2): 884-889 (1976)
21. W.F.Stauber, S.H.Ong, R.S.McCuskey
Selective extravascular escape of
albumin into the cerebral cortex of
the diabetic rat.
Diabetes 30: 500-503 (1981)

22. B.Chavers, D.Etzwiler, A.F.Michael

Albumin deposition in dermal capillary
basement membrane in insulin- dependent
diabetes mellitus.

Diabetes 30: 275-278 (1981)

23. A.F.Michael, D.M.Brown

Increased concentration of albumin in
kidney basement membranes in diabetes
mellitus.

Diabetes 30: 843-846 (1981)

24. K.F.McFarland, E.W.Catalano, J.F.Day, S.R.Thorpe,
J.W.Baynes

Nonenzymatic glucosylation of serum
proteins in diabetes mellitus.

Diabetes 28: 1011-1014 (1979)

25. D.K.Yue, K.Morris, S.McLennan, J.R.Turtle

Glycosylation of plasma protein and
its relation to glycosylated hemo-
globin in diabetes.

Diabetes 29: 296-300 (1980)

26. R.Dolhofer, O.H.Wieland

Improvement of the thiobarbituric acid
assay for serum glycosylprotein
determination.

Clin.Chim.Acta 112: 197-204 (1981)

27. E.Schleicher, T.Deufel, O.H.Wieland
Nonenzymatic glycosylation of human serum lipoproteins, elevated ϵ -lysine glycosylated low density lipoprotein in diabetic patients.
FEBS Lett. 129: 1-4 (1981)
28. J.L.Witztum, E.M.Mahoney, J.M.Branks, M.Fisher, R.Elam, D.Steinberg
Nonenzymatic glucosylation of low density lipoprotein alters its biologic activity.
Diabetes 31: 283-291 (1982)
29. B.Gonen, J.Baenziger, G.Schonfeld, D.Jacobsen, P.Farrar
Nonenzymatic glycosylation of low density lipoproteins in vitro- effects on cell-interactive properties.
Diabetes 30: 875-878 (1981)
30. J.Sasaki, G.L.Cottam
Glycosylation of human LDL and its metabolism in human skin fibroblasts.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 104: 977-983 (1982)
31. E.Schleicher, B.Olgemüller, H.Schön, T.Dürst, O.H.Wieland (in Bearbeitung)
32. J.L.Witztum, M.Fisher, T.Pietro, P.Steinbrecher, R.L.Elam
Nonenzymatic glucosylation of high-density lipoprotein accelerates its catabolism in guinea pigs.
Diabetes 31: 1029-1032 (1982)

33. A.J.Bailey, S.P.Robins, M.J.A.Tanner
Reducible components in the proteins
of human erythrocyte membrane.
Biochim.Biophys.Acta 434: 51-57 (1976)
34. J.A.Miller, E.Gravallese, H.F.Bunn
Nonenzymatic glycosylation of erythro-
cyte membrane proteins - relevance to
diabetes.
J.Clin.Invest. 65: 896-901 (1980)
35. E.Schleicher, L.Scheller, O.H.Wieland
Quantitation of lysine-bound glucose
of normal and diabetic erythrocyte
membranes by HPLC analysis of furosine.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 99: 1011-1019
(1981)
36. D.E.McMillan, S.M.Brooks
Erythrocyte spectrin glucosylation in
diabetes.
Diabetes 31 (Supl.3): 64-69 (1982)
37. E.Schleicher, T.Deufel, O.H.Wieland
Increase of membrane glycosylation and
ADP permeability of diabetic erythro-
cytes.
Diabetologia 21: 324-325 (1981)
38. H.Schmid-Schonbein, E.Volger
Red-cell aggregation and red-cell
deformability in diabetes.
Diabetes 25 (Supl.2): 897-902 (1976)
39. D.E.McMillan, N.G.Utterback, J.La Puma
Reduced erythrocyte deformability in
diabetes.
Diabetes 27: 895-901 (1978)

40. Y.Baba, M.Kai, T.Kamada, S.Setoyama, S.Otsuji
Higher levels of erythrocyte membrane
microviscosity in diabetes.
Diabetes 28: 1138-1140 (1979)
41. J.Uitto, G.A.Grant, A.J.Perejda, E.Rowold, J.R.
Williamson
Glucosylation of human glomerular
basement membrane collagen (GBMC):
increased nonenzymatic glucosylation
in diabetes.
Fed.Proc. 39: 1792 (1980) - abstract
42. A.Y.Chang, R.E.Noble
5-Hydroxymethylfurfural-forming
proteins in the renal glomeruli of
control and streptozotocin-diabetic
rats.
Life Sciences 26: 1329-1333 (1980)
43. M.P.Cohen, E.Urdanivia, M.Surma, V.Y.Wu
Increased glycosylation of glomerular
basement membrane collagen in diabetes.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 95: 765-769
(1980)
44. A.Le Pape, J.D.Guitton, J.P.Muh
Modifications of glomerular basement
membrane cross-links in experimental
diabetic rats.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 100: 1214-1221
(1981)
45. B.A.Buckingham, J.Uitto, C.Sandberg, T.Keens,
F.Kaufman, B.Landing
Scleroderma-like syndrome and the non-

enzymatic glucosylation of collagen in children with poorly controlled insulin-dependent diabetes (IDDM).

Pediatr.Res. 15 (part 2): 626 (1981)
abstract

46. S.L.Schnider, R.R.Kohn

Effects of age and diabetes mellitus on the solubility and nonenzymatic glucosylation of human skin collagen.
J.Clin.Invest. 67: 1630-1635 (1981)

47. H.B.Knowles

Joint contractures, waxy skin and control of diabetes.
New Engl.J.Med. 305: 217-218 (1981)

48. S.L.Schnider, R.R.Kohn

Glucosylation of human collagen in aging and diabetes mellitus.
J.Clin.Invest. 66: 1179-1181 (1980)

49. S.P.Robins, A.J.Bailey

Age-related changes in collagen: the identification of reducible lysine-carbohydrate condensation products.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 48: 76-84 (1972)

50. A.Le Pape, J.P.Muh, A.J.Bailey

Characterization of N-glucosylated typeI collagen in streptozotocin-induced diabetes.
Biochem.J. 197: 405-412 (1981)

51. A.L.Rosenbloom, J.H.Silverstein, D.C.Lecotte,
K.Richardson, M.McCallum
Limited joint mobility in childhood
diabetes mellitus indicates increased
risk for microvascular disease.
New Engl.J.Med. 305: 191-194 (1981)
52. H.Rosenberg, J.B.Modrak, J.M.Hassing, W.A.Al-Turk,
S.J.Stohs
Glycosylated collagen.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 91: 498-501
(1979)
53. H.Vlassara, M.Brownlee, A.Cerami
Nonenzymatic glycosylation of peri-
pheral nerve protein in diabetes
mellitus.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 78: 5190-5192
(1981)
54. B.W.Vogt, E.D.Schleicher, O.H.Wieland
 ϵ -Amino-lysine-bound glucose in human
tissues obtained at autopsy- increase
in diabetes mellitus.
Diabetes 31: 1123-1127 (1982)
55. S.H.Chiou, L.T.Chylack, W.H.Tung, H.F.Bunn
Nonenzymatic glycosylation of bovine
lens crystallins - effect of aging.
J.Bio.Chem. 256: 5176-5180 (1981)
56. V.J.Stevens, C.A.Rouzer, V.M.Monnier, A.Cerami
Diabetic cataract formation: potential
role of glycosylation of lens
crystallins.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 75: 2918-2922
(1978)

57. A.Pande, W.H.Garner, A.Spector,
Glucosylation of human lens protein
and cataractogenesis.
Biochem.Biophys.Res.Comm. 89: 1260-1266
(1979)
58. N.H.Ansari, Y.L.Awasthi, S.K.Srivastava
Role of glycosylation in protein
disulfide formation and cataractogenesis.
Exp.Eye Res. 31: 9-19 (1980)
59. V.M.Monnier, V.J.Stevens, A.Cerami
Nonenzymatic glycoylation, sulfhydryl
oxidation, and aggregation of lens
proteins in experimental sugar cataracts.
J.Exp.Med. 150: 1098-1107 (1979)
60. S.K.Williams, N.L.Howarth, J.J.Devenny, M.W.Bitensky
Structural and functional consequences
of increased tubulin glycosylation in
diabetes mellitus.
Proc.Natl.Acad.Sci.USA 79: 6546-6550
(1982)
61. A.Gottschalk
Some biochemically relevant properties
of N-substituted fructosamines derived
from amino-acids and N-arylglucosamines.
Biochem.J. 52: 455-460 (1952)
62. H.Ebersdobler, H.Zucker
Untersuchungen zum Gehalt an Lysin und
verfügbarem Lysin in Trockenmagermilch.
Milchwissenschaft 21: 564-568 (1966)

63. K.Heyns, J.Heukeshoven, K.H.Brose
Der Abbau von Fruktoseamino-säuren zu
N-(2-Furoylmethyl)-Aminosäuren. Zwischen-
produkte von Bräunungsreaktionen.
Angew.Chem. 80: 627-627 (1968)
64. P.A.Finot, J.Bricout, R.Viani, J.Mauron
Identification of a new lysine derivate
obtained upon acid hydrolysis of heated
milk.
Experientia 24: 1097-1099 (1968)
65. P.A.Finot
"Non-enzymatic browning" in: "Proteins
in human nutrition" (Hrsg. J.W.G.Porter,
B.A.Rolls) - S.501
Academic Press, London - New York (1973)
66. C.A.Krakower, S.A.Greenspon
"The isolation of basement membranes"
in "Biology and chemistry of basement
membranes" (Hrsg. N.A.Kefalides)
Academic Press, London - New York (1978)
67. R.John, J.Thomas
Chemical compositions of elastins
isolated from aortas and pulmonary
tissues of humans of different ages.
Biochem.J. 127: 261-269 (1972)
68. J.Carnivet, A.Cruz, H.Moreau-Lalande
Biochemical abnormalities of the human
diabetic glomerular basement membrane.
Metabolism 28: 1206-1210 (1979)

69. P.J.Beisswenger

Glomerular basement membrane - biosynthesis and chemical composition in the streptozotocin diabetic rat.
J.Clin.Invest. 58: 844-852 (1976)

70. P.J.Beisswenger, R.G.Spiro

Studies of the human glomerular basement membrane: composition, nature of the carbohydrate units and chemical changes in diabetes mellitus.
Diabetes 22: 180-193 (1973)

71. P.J.Beisswenger, R.G.Spiro

Human glomerular basement membrane - chemical alteration in diabetes mellitus.
Science 168: 596-598 (1970)

72. N.A.Kefalides

Biochemical properties of human-glomerular basement membrane in normal and diabetic kidneys.
J.Clin.Invest. 53: 403-407 (1974)

73. H.Holzer, G.Sedlmayr, M.Kiese

Bestimmung des Blutgehaltes von Leberproben zur Korrektur chemischer Analysen.
Biochem.Z. 328: 176-186 (1956)

74. L.Sachs

Statistische Auswertungsmethoden
Springer Verlag, Berlin - Heidelberg - New York 2.Auflage (1972)

75. P.Karlson, W.Gerok, W.Groß
Pathobiochemie
G.Thieme Verlag, Stuttgart (1978)
76. E.Buddecke
Grundriß der Biochemie
W.de Gruyter, Berlin - New York
6.Auflage (1980)
77. K.H.Winterhalter
Nichtenzymatische Glykosylierung von
Proteinen - Bedeutung beim Diabetes
Mellitus.
Swiss Med 4: 45-53 (1982)
78. V.M.Monnier, A.Cerami
Nonenzymatic glycosylation and browning
in diabetes and aging.
Diabetes 31(Suppl.3): 57-63 (1982)
79. C.F.Wannemacher, A.Spector
Proteins synthesis in the core of the
calf lens.
Exp.Eye Res. 7: 623 (1968)
80. H.Bloemendal
The vertebrate eye lens. A useful
system for the study of fundamental
biological processes on a molecular
level.
Science 197: 127-138 (1977)
81. K.H.Gabbay
The sorbitol pathway and the compli-
cations of diabetes.
New Engl.J.Med. 288: 831-836 (1973)

82. B.Keil, Z.Sormova

Laboratoriumstechnik für Biochemiker
Akademische Verlagsgesellschaft
Geest & Portig, Leipzig (1965)

83. R.Dolhofer, E.A.Siess, O.H.Wieland

Inactivation of bovine kidney β -acetyl-
D-glucosaminidase by nonenzymatic
glucosylation.
Hoppe-Seyler's Z.Physiol.Chem. 363:
1427-1436 (1982)

84. C.S.Tsai, J.H.White

Activation of liver alcohol dehydro-
genase by glycosylation.
Biochem.J. 209: 309-314 (1983)

85. R.Dolhofer, O.H.Wieland

Preparation and biological properties
of glycosylated insulin.
FEBS Lett. 100: 133-136 (1979)

86. M.P.Cohen, V.Y.Wu

Identification of specific amino acids
in diabetic glomerular basement
membrane collagen subject to non-
enzymatic glucosylation in vivo.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 100:
1549-1554 (1981)

87. M.R.Schuyler, D.E.Niewöhner, S.R.Inkley, R.R.Kohn

Abnormal lung elasticity in juvenile
diabetes mellitus.
Am.Rev.Respir.Dis. 113: 37-41 (1976)

88. H.C.Pillsbury, W.Hung, M.C.Kyle, E.D.Freis
Arterial pulse waves and velocity and
systolic time intervals in diabetic
children.
Am.Heart J. 87: 783-790 (1974)
89. C.M.Peterson, P.Tsairis, A.Ohnishi, Y.S.Lu,
R.Grady, A.Cerami, P.J.Dyck
Sodium cyanate induced polyneuropathy
in patients with sickle-cell disease.
Ann.Intern.Med. 81: 152-158 (1974)
90. A.Ohnishi, C.M.Peterson, P.J.Dyck
Axonal degeneration in sodium cyanate-
induced neuropathy.
Arch.Neurol. 32: 530-534 (1975)
91. G.Goodkin
Mortality factors in diabetes - a 20
year mortality study.
J.Occup.Med. 17: 716-721 (1975)
92. H.Mehnert, H.Sewering, W.Reichstein, H.Vogt
Früherfassung von Diabetikern in
München 1967/68.
Deutsche Medizinische Wochenschrift
93: 2044-2050 (1968)
93. G.Ditscherlein
Häufigkeit der Glomerulosklerose bei
400 obduzierten Diabetikern.
Z.Verdaug.-u.Stoffwechselkr. 25: 55-63
(1965)

94. F.Traub

Methode zur Erkennung von tödlichen
Zuckerstoffwechselstörungen an der
Leiche (Diabetes mellitus und Hypo-
glykämie)

Zbl.allg.Path. 112: 390-399 (1969)

95.....

Abstracts Nr.1503-1507

Zbl.Rechtsmedizin 25: 374-375 (1983)

96. E.D.Schleicher, K.D.Gerbitz, R.Dolhofer, E.Reindl,
O.H.Wieland, M.D.Edelmann, M.Haslbeck, W.Kemmler,
H.Walter, H.Mehnert

Clinical utility of nonenzymatically
glycosylated blood proteins of control
index of the glucose balance.

Diabetes Care, 1984 (im Druck)

97. T.Gilg, E.Liebhardt, G.Kauert

Untersuchungen der Blutspiegel von
glykosyliertem Hämoglobin (HbA₁) an
Leichenbluten und asservierten Blut-
proben und Anwendungsmöglichkeiten
in der Rechts- und Verkehrsmedizin.

Beitr.z.Gerichtl.Med.17: 293-300 (1984)

Autorenverzeichnis in alphabetischer Reihenfolge

Angrick,M., Rewicki,D. (1980)	(9)
Ansari,N.H., Awasthi,Y.L., Srivastava,S.K. (1980)	(58)
Baba,Y., Kai,M., Kamada,T., Setoyama,S., Otsuji,S.(1979) ..	(40)
Bailey,A.J., Robins,S.P., Tanner,M.J.A.(1976)	(33)
Beisswenger,P.J., Spiro,R.G. (1970)	(71)
Beisswenger,P.J., Spiro,R.G. (1973)	(70)
Beisswenger,P.J. (1976)	(69)
Bloemendal,H. (1977)	(80)
Brownlee,M., Cerami,A. (1981)	(3)
Buckingham,B.A., Uitto,J., Sandberg,C., Keens,T., Kaufman, F., Landing.B. (1981)	(45)
Buddecke,E. (1980)	(76)
Bunn,H.F., Briehl,R.W. (1970)	(15)
Bunn,H.F., Haney,D.N., Gabbay,K.H., Gallop,P.M. (1975)	(13)
Carnivet,J., Cruz,A., Moreau-Lalande,H.(1979)	(68)
Chang,A.Y., Noble,R.E. (1980)	(42)
Chavers,B., Etzwiler,D., Michael,A.F. (1981)	(22)
Chiou,S.H., Chylack,L.T., Tung,W.H., Bunn,H.F. (1981)	(55)
Cohen,M.P., Urdanivia,E., Surma,M., Wu,V.Y. (1980)	(43)
Cohen,M.P., Wu,V.Y. (1981)	(86)
Day,M.F., Thorpe,S.R., Baynes,J.W. (1979)	(17)
Ditscherlein,G. (1965)	(93)
Dolhofer,R., Wieland,O.H. (1979)	(16)
Dolhofer,R., Wieland,O.H. (1979)	(85)
Dolhofer,R., Wieland,O.H. (1981)	(26)
Dolhofer,R., Siess,E.A., Wieland,O.H. (1982)	(83)
Ebersdobler,H., Zucker,H. (1966)	(62)
Finot,P.A., Bricout,J. Viani,R. Mauron,J. (1968)	(64)
Finot,P.A. (1973)	(65)
Gabbay,K.H. (1973)	(81)
Gilg,T., Liebhardt,E., Kauert,G. (1984)	(97)
Goodkin,G. (1975)	(91)
Gonen,B., Baenziger,J., Schonfeld,G., Jacobsen,D., Farrar, P. (1981)	(29)
Gottschalk,A. (1952)	(61)
Heyns,K., Heukeshoven,J., Brose,K.H. (1968)	(63)

Hodge, J.E., Rist, C.E. (1953)	(10)
Holmquist, W.R., Schröder, W.A. (1966)	(12)
Holzer, H., Sedlmayr, G., Kiese, M. (1956)	(73)
John, R., Thomas, J. (1972)	(67)
Karlson, P., Gerok, W., GroB, W. (1978)	(75)
Kefalides, N.A. (1974)	(72)
Keiding, N.R., Root, H.F., Marble, A. (1952)	(1)
Keil, B., Sormova, Z. (1965)	(82)
Knowles, H.B. (1981)	(47)
Krakower, C.A., Greenspon, S.A. (1978)	(66)
Le Pape, A., Guitton, J.D., Muh, J.P. (1981)	(44)
Le Pape, A., Muh, J.P., Bailey, A.J. (1981)	(50)
Ma, A., Naughton, M.A., Cameron, D.P. (1981)	(19)
Maillard, L.C. (1912)	(7)
Maillard, L.C. (1912)	(8)
Mayer, T.K., Freedmann, Z.R. (1983)	(4)
McDonald, M.J., Bleichman, M., Bunn, H.F. (1979)	(14)
McFarland, K.F., Catalano, E.W., Day, J.F., Thorpe, S.R., Baynes, J.W. (1979)	(24)
McMillan, D.E., Utterback, N.G., La Puma, J. (1978)	(39)
McMillan, D.E., Brooks, S.M. (1982)	(36)
Mehnert, H., Sewering, H., Reichstein, W., Vogt, H. (1968)	(92)
Michael, A.F., Brown, D.M. (1981)	(23)
Miller, J.A., Gravallese, E., Bunn, H.F. (1980)	(34)
Monnier, V.M., Stevens, V.J., Cerami, A. (1979)	(59)
Monnier, V.M., Cerami, A. (1982)	(78)
Neglia, C.I., Cohen, H.J., Garber, A.R., Ellis, P.D., Thorpe, S.R., Baynes, J.W. (1983)	(11)
Ohnishi, A., Peterson, C.M., Dyck, P.J. (1974)	(90)
Pande, A., Garner, W.H., Spector, A. (1979)	(57)
Parving, H.H. (1976)	(20)
Peterson, C.M., Tsairis, P., Ohnishi, A., Lu, Y.S., Grady, R., Cerami, A., Dyck, P.J. (1974)	(89)
Pillsbury, H.C., Hung, W., Kyle, M.C., Freis, E.D. (1974)	(88)
Pirart, J. (1978)	(2)
Robins, S.P., Bailey, A.J. (1972)	(49)
Rosenberg, H., Modrak, J.B., Hassing, J.M., Al-Turk, W.A., Stohs, S.J. (1979)	(52)

Rosenbloom,A.L., Silverstein,J.H., Lecotte,D.C.,	
Richardson,K., McCallum,M. (1981)	(51)
Sachs,L. (1972)	(74)
Sasaki,J., Cottam,G.L. (1982)	(30)
Schleicher,E., Wieland,O.H. (1981)	(6)
Schleicher,E., Scheller,L., Wieland,O.H. (1981)	(35)
Schleicher,E., Deufel,T., Wieland,O.H. (1981)	(37)
Schleicher,E., Deufel,T., Wieland,O.H. (1981)	(27)
Schleicher,E.D., Gerbitz,K.D., Dolhofer,R., Reindl,E.,	
Wieland,O.H., Edelmann,M.D., Haslbeck,M., Kemmler,W.,	
Walter,H., Mehnert,H. (1984)	(96)
Schleicher,E., Olgemüller,B., Schön,H., Dürst,T.	
(in Bearbeitung)	(31)
Schmid-Schonbein,H., Volger,E. (1976)	(38)
Schnider,S.L., Kohn,R.R. (1980)	(48)
Schnider,S.L., Kohn,R.R. (1981)	(46)
Schuyler,M.R., Niewöhner,D.E., Inkley,S.R., Kohn,R.R.	
(1976)	(87)
Stauber,W.F., Ong,S.H., McCuskey,R.S. (1981)	(21)
Stevens,V.J., Rouzer,C.A., Monnier,V.M., Cerami,A. (1978)	(56)
Traub,F. (1969)	(94)
Tsai,C.S., White,J.H. (1983)	(84)
Uitto,J., Grant,G.A., Perejeda,A.J., Rowold,E.,	
Williamson,J.R. (1980)	(41)
Vlassara,H., Brownlee,M., Cerami,A. (1981)	(53)
Vogt,B.W., Schleicher,E.D., Wieland,O.H. (1982)	(54)
Wannemacher,C.F., Spector,A. (1968)	(79)
Wieland,O.H. (1983)	(5)
Williams,S.K., Devenny,J.J., Bitensky,M.W. (1981)	(18)
Williams,S.K., Howarth,N.L., Devenny,J.J., Bitensky,M.W.	
(1982)	(60)
Winterhalter,K.H. (1982)	(77)
Witztum,J.L., Mahoney,E.M., Branks,J.M., Fisher,M., Elam,	
R., Steinberg,D. (1982)	(28)
Witztum,J.L., Fisher,M., Pietro,T., Steinbrecher,P., Elam,	
R.L. (1982)	(32)
Yue,D.K., Morris,K., McLennan,S., Turtle,J.R. (1980)	(25)

Anhang

Anhang 1

Zusammenfassende Tabelle aller gemessenen nicht-enzymatischen Glukosylierungen von Sehnengewebe, Aortengewebe, Koronararterien, peripherem Nervengewebe, glomerulärer Basalmembran und Lungenbindegewebe mit den dazugehörigen klinischen Daten. Bei den Aortenproben sind jeweils nur die Glukosylierungen derjenigen Proben angegeben, die von Gefäßabschnitten mit geringerer Arteriosklerose entnommen wurden.

Es bedeuten:

KD Keine Diabetiker

DM Patienten mit Diabetes mellitus

LD Patienten mit leichten Hyperglykämien

(zu den Kriterien dieser Einteilung vergleiche S.14)

m männlich

w weiblich

§ wegen unvollständiger Krankengeschichte keine Angaben möglich

Patient Nr.	Diabetiker?	falls ja, seit wieviel Jahren	Lebensalter (Jahre)	Geschlecht (m = männlich) (w = weiblich)	mittlerer Blutzucker (mg/dl)	NEG Sehne		NEG Aorta		NEG Koronarart.		NEG peri- pherer Herv		NEG glomeru- läre BH	
						nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.
1	KD	--	87	v	126	--	--	10	0,28	--	--	20	0,32	--	--
2	KD	--	83	m	108	39	1,0	8	0,23	--	--	18	0,29	--	--
3	KD	--	89	v	116	30	0,8	--	--	--	--	--	--	--	--
4	KD	--	57	m	114	31	0,8	12	0,33	--	--	24	0,37	--	--
5	KD	--	67	v	125	44	1,1	13	0,37	--	--	24	0,38	--	--
6	KD	--	68	m	140	46	1,1	19	0,52	--	--	--	--	--	--
7	KD	--	79	v	114	30	0,7	18	0,49	--	--	--	--	--	--
8	DM	4	84	v	197	--	--	20	0,55	--	--	--	--	--	--
9	KD	--	74	v	-(§)	37	0,9	15	0,42	--	--	--	--	--	--
10	KD	--	69	m	106	31	0,8	15	0,46	--	--	--	--	--	--
11	LD	--	59	m	177	32	0,8	20	0,54	--	--	--	--	--	--
12	KD	--	84	v	115	30	0,7	15	0,42	--	--	--	--	--	--
13	LD	--	81	v	170	38	0,9	19	0,52	--	--	--	--	--	--
14	LD	--	84	v	148	--	--	25	0,70	--	--	--	--	--	--
15	LD	--	44	m	218	33	0,8	35	0,96	--	--	--	--	--	--
16	DM	6	42	m	227	109	2,7	26	0,71	--	--	--	--	--	--
19	DM	1	71	v	161	58	1,4	42	1,15	--	--	--	--	--	--
20	KD	--	71	v	96	36	0,9	12	0,33	--	--	--	--	--	--
21	LD	--	52	m	176	56	1,4	19	0,53	--	--	--	--	--	--
22	KD	--	0,15	m	106	24	0,6	10	0,27	--	--	--	--	--	--
23	KD	--	64	v	94	38	0,9	--	--	--	--	--	--	--	--
24	DM	20	74	v	301	103	2,6	52	1,43	--	--	55	0,86	--	--

NEG Lungen- bindeewebe		Index der Spätkomplikationen	Bemerkungen zur Klinik und zur Pathologie	Patient Nr.
nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/μg Feuchtgew.			
--	--	0	Magenkarzinom, Tod durch toxisches Herz-Kreislaufversagen	1
--	--	1	Lebercirrhose, Zustand nach Bilroth II, Tod durch Rechtsherzversagen	2
--	--	1	stenosierende Koronararteriosklerose, Tod durch koronarielle Insuffizienz	3
--	--	1	metastasierendes Lungenkarzinom, Tod durch toxisches Herz-Kreislaufversagen	4
--	--	1	Lissauer Paralyse bei Lues IV, Tod durch Herz-Kreislaufversagen	5
--	--	0	metastasierendes Bronchialkarzinom, Zustand nach Nephrektomie links	6
--	--	1	chronisch-myeloische Leukämie	7
--	--	3	KHK, AVK, Herzschrittmacher, mit oralen Antidiabetika eingestellt	8
--	--	1	massivste, unstillbare Nasenblutungen, Tod durch koronarielle Insuffizienz	9
--	--	1	Blutendes Duodenalulcus, Hirnaneurysm	
--	--	2	Alkoholabusus, Lebercirrhose, hepatozelluläres Karzinom, akutes Nierenversagen	10
--	--	1	chronischer Alkoholabusus, dekompensierte Lebercirrhose, eitrige Meningitis, leichte Niereninsuffizienz, Steroiddiabetes	11
--	--	1	akuter Myokardinfarkt	12
--	--	2	intrazerebrale Massenblutung, Tod durch zentrales Herz-Kreislaufversagen	13
--	--	2	chronische Myelose, KHK, Zustand nach Vorderwandinfarkt, Tod durch Herzversagen bei koronarieller Insuffizienz	14
--	--	0	Schädel-Hirntrauma, Steroiddiabetes	15
--	--	(§)	Alkoholabusus, Fettleber, chron. Pankreatitis, Bilroth II, seit 1 Jahr mit Depot-Insulin eingestellt	16
--	--	5	zusätzlich zu dem bekannten Diabetes in letzter Zeit intensive Cortisongabe	19
--	--	0	postendokarditische Mitralklappenstenose, frisch rezidierte Endocarditis verrucosa der Aortenklappe, Tod durch ausgeprägte intestinale Blutung als Schockfolge	20
--	--	0	Steroiddiabetes infolge mehrmonatiger Glucocorticoidtherapie, Tod durch Rechtsherzversagen	21
--	--	0	akute Leberdystrophie, hämolytische Anämie unklarer Genese, Bilirubin 25mg/dl	22
--	--	--	amputiertes Raucherbein	23
--	--	5	AVK, stenosierende Koronarsklerose, Gangrän der Großzehenspitze, 1 Riesensack (12kg), seit 2 Jahren insulinpflichtig, zuvor mit oralen Antidiabetika eingestellt, Miliiartuberkulose der Lunge	24

Patient Nr.	Diabetiker?	falls ja, seit wieviel Jahren?	Lebensalter (Jahre)	Geschlecht (♂ = männlich; ♀ = weiblich)	mittlerer Blutzucker (mg/dl)	NEG Sehne		NEG Aorta		NEG Koronarart.		NEG peripherer Nerv		NEG glomeruläre RN	
						nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.
25	LD	--	29	♀	226	50	1,2	14	0,38	--	--	28	0,43	--	--
26	LD	--	73	♀	-(§)	--	--	22	0,59	--	--	--	--	--	--
28	DM	30	81	♀	178	87	2,2	47	1,30	--	--	--	--	55	4,5
29	DM	10	72	♀	187	97	2,4	50	1,37	--	--	--	--	30	2,4
30	LD	--	78	♀	160	44	1,1	10	0,27	--	--	--	--	19	1,6
31	DM	19	46	♂	206	69	1,7	32	0,89	--	--	59	0,91	40	3,3
32	KD	--	0,8	♂	-(§)	--	--	10	0,28	--	--	--	--	--	--
34	LD	--	53	♂	171	--	--	--	--	--	--	--	--	14	1,1
35	KD	--	12	♀	96	35	0,9	13	0,35	--	--	--	--	8	0,7
36	KD	--	86	♀	155	--	--	17	0,46	--	--	--	--	10	0,8
37	KD	--	88	♂	98	--	--	13	0,36	--	--	32	0,50	--	--
38	DM	10	65	♀	240	104	2,6	52	1,43	--	--	67	1,03	22	1,8
39	DM	12	70	♀	609	131	3,3	74	2,05	--	--	124	1,93	--	--
40	KD	--	76	♀	-(§)	--	--	--	--	--	--	36	0,56	--	--
41	LD	--	51	♂	169	52	1,3	--	--	--	--	36	0,55	--	--
42	KD	--	72	♂	114	45	1,1	16	0,43	23	0,43	27	0,43	--	--
43	KD	--	55	♂	97	42	1,1	12	0,32	17	0,32	--	--	7	0,6
44	LD	--	58	♀	303	37	0,9	17	0,46	17	0,31	27	0,42	--	--
45	KD	--	80	♀	155	35	0,9	14	0,40	18	0,34	25	0,39	--	--
46	KD	--	40	♀	127	37	0,9	10	0,28	17	0,32	24	0,38	7	0,6
47	DM	10	61	♂	272	74	1,9	40	1,11	38	0,71	54	0,88	11	0,9

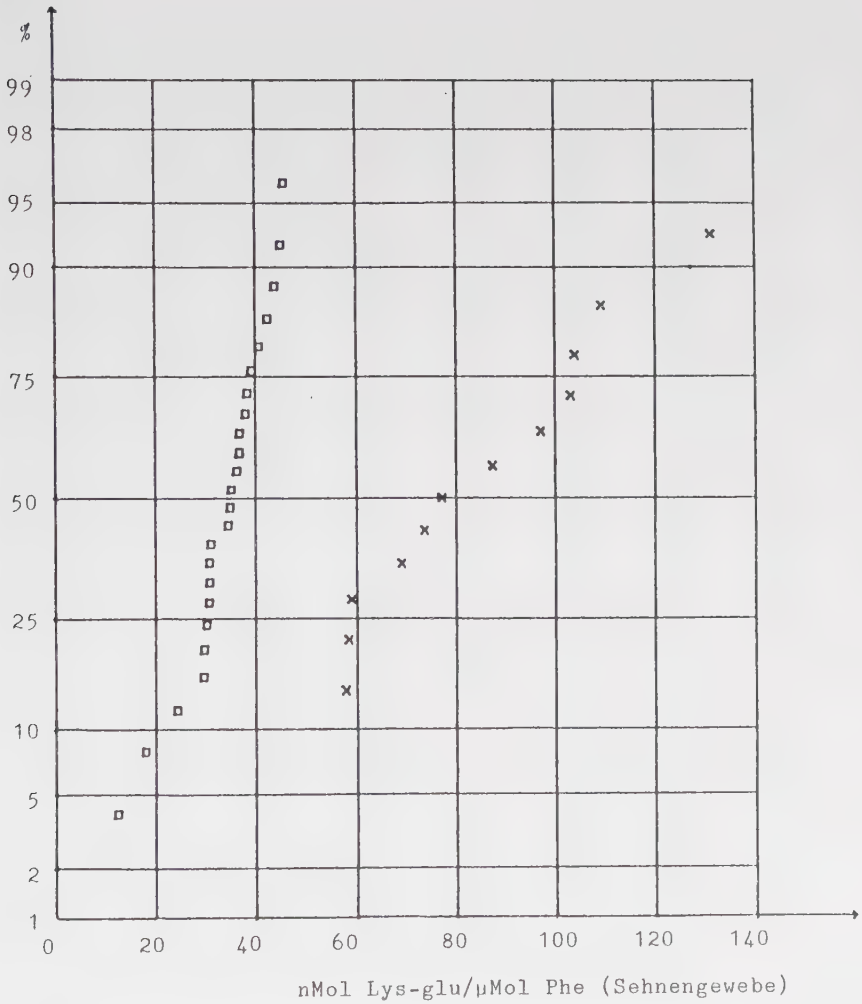
NEG Lungen- bindegewebe		Index der Spätkomplikationen	Bemerkungen zur Klinik und zur Pathologie	Patient Nr.
nMol Lys-glu/ μ Mol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.			
--	--	0	Schädel-Hirntrauma, Adipositas, Steroiddiabetes infolge Glucocorticoidtherapie	25
--	--	3	Schocknieren, Pankreasödem	26
--	--	7	Status asthmaticus, erhöhtes Blutzuckertagesprofil infolge hoher Cortisondosen	28
--	--	7	AVK, KHK, Tod durch Herzversagen	28
--	--	7	seit 4 Jahren insulinpflichtig (Depotinsulin), AVK, KHK, Polyneuropathie, diab. Retinopathie, Gangrän, frischer Hirninfarkt, Tod durch zentrales Herz-Kreislaufversagen	28
--	--	6	seit 2 Jahren insulinpflichtig (Depotinsulin), AVK, Psoriasis vulgaris, Lebercirrhose, Alkoholabusus? Tod durch koronarielle Insuffizienz	29
--	--	0	Borderline-Diabetiker, diätetisch eingestellt, hypertone Massenblutung mit Hemiparese, Bronchuskarzinom, Tod durch zentrales Herz-Kreislaufversagen	30
--	--	6	juvener Diabetes, insulinpflichtig, AVK, Retinopathie, Neuropathie, Glomerulosklerose Kimmelstiel-Wilson, Peritonealdialyse bei chronischer Niereninsuffizienz	31
--	--	0	Zustand nach Myokarditis, Tod durch Herzversagen	32
--	--	0	Zustand nach Bilioth II, chronische Pankreatitis, Tod durch Rechtsherzversagen bei Lungenarterienembolie	34
--	--	0	rupturiertes, kongenitales Hirnbasisarterienaneurysma	35
--	--	1	metastasierendes Mammarkarzinom, Tod durch Rechtsherzversagen bei frischen Lungenarterienembolien	36
--	--	2	Tod durch Herzversagen	37
--	--	-({}	mit oralen Antidiabetika eingestellt, chronische Niereninsuffizienz, Erysipel kavernöse Lungenspitzen-TBC, chronische Myelose, Glucocorticoidtherapie	38
99	14	6	Einweisung wegen entgleistem Diabetes, Coma diabeticum, Foetor acetonicus, Acidose, seit 3 Jahren insulinpflichtig, Gangrän, Neuropathie	39
--	--	1	Apoplektischer Insult, Einweisung wegen Embolektomie	40
27	3,9	0	Tod durch Rechtsherzversagen	41
33	4,8	1	AVK, Blasenkarzinom, Niereninsuffizienz, Tod durch Herzversagen	42
34	4,9	0	Niereninsuffizienz, Tod durch Rechtsherzversagen bei Lungenarterienembolie	43
38	5,6	0	akute myeloische Leukämie, protrahierter Schock, Tod durch Herzversagen	44
38	5,5	1	Rektumkarzinom, protrahierter Schock, Tod durch Herzversagen	45
--	--	0	akute Leukämie, Tod durch Rechtsherzversagen	46
57	8,3	4	mit oralen Antidiabetika eingestellt, Tod durch massive Ösophagusvarizenblutz.	47

Patient Nr.	Diabetiker?	falls ja, seit wieviel Jahren?	Lebensalter (Jahre)	Geschlecht (m = männlich; w = weiblich)	mittlerer Blutzucker (mg/dl)	NEG Sehne		NEG Aorta		NEG Koronarart.		NEG peripherer Nerv		NEG glomeruläre BM	
						nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.	nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.
48	DM	14	55	m	290	77	1,9	32	0,89	37	0,69	62	0,96	33	2,71
49	LD	--	64	w	177	31	0,8	21	0,57	17	0,32	22	0,35	12	1,03
50	DM	20	83	w	183	59	1,5	25	0,70	35	0,65	33	0,52	23	1,90
51	KD	--	46	m	98	18	0,4	18	0,49	16	0,29	16	0,24	--	--
52	LD	--	46	m	201	--	--	--	--	--	--	21	0,33	--	--
53	KD	--	72	m	109	38	1,0	12	0,33	--	--	--	--	11	0,92
54	KD	--	54	w	127	--	--	--	--	--	--	25	0,39	--	--
55	KD	--	52	m	120	12	0,3	--	--	9	0,16	16	0,25	--	--
56	LD	--	70	m	302	55	1,4	--	--	--	--	--	--	--	--
57	KD	--	51	m	135	31	0,8	10	0,29	13	0,25	18	0,28	13	1,09
58	KD	--	86	m	150	41	1,0	18	0,50	16	0,31	--	--	12	1,02
59	LD	--	51	m	159	28	0,7	16	0,45	12	0,23	--	--	14	1,16
60	DM	6	62	w	156	58	1,5	34	0,93	27	0,50	24	0,38	21	1,77
61	LD	--	76	w	181	49	1,2	20	0,69	23	0,44	24	0,38	--	--
62	LD	--	82	m	126	52	1,3	24	0,66	16	0,29	52	0,81	--	--
63	KD	--	70	w	146	--	--	--	--	--	--	29	0,45	--	--
64	KD	--	89	w	95	31	0,8	21	0,57	--	--	30	0,47	--	--
65	KD	--	72	w	154	35	0,9	11	0,30	21	0,39	23	0,36	--	--
66	KD	--	75	m	155	--	--	8	0,22	8	0,15	--	--	13	1,04

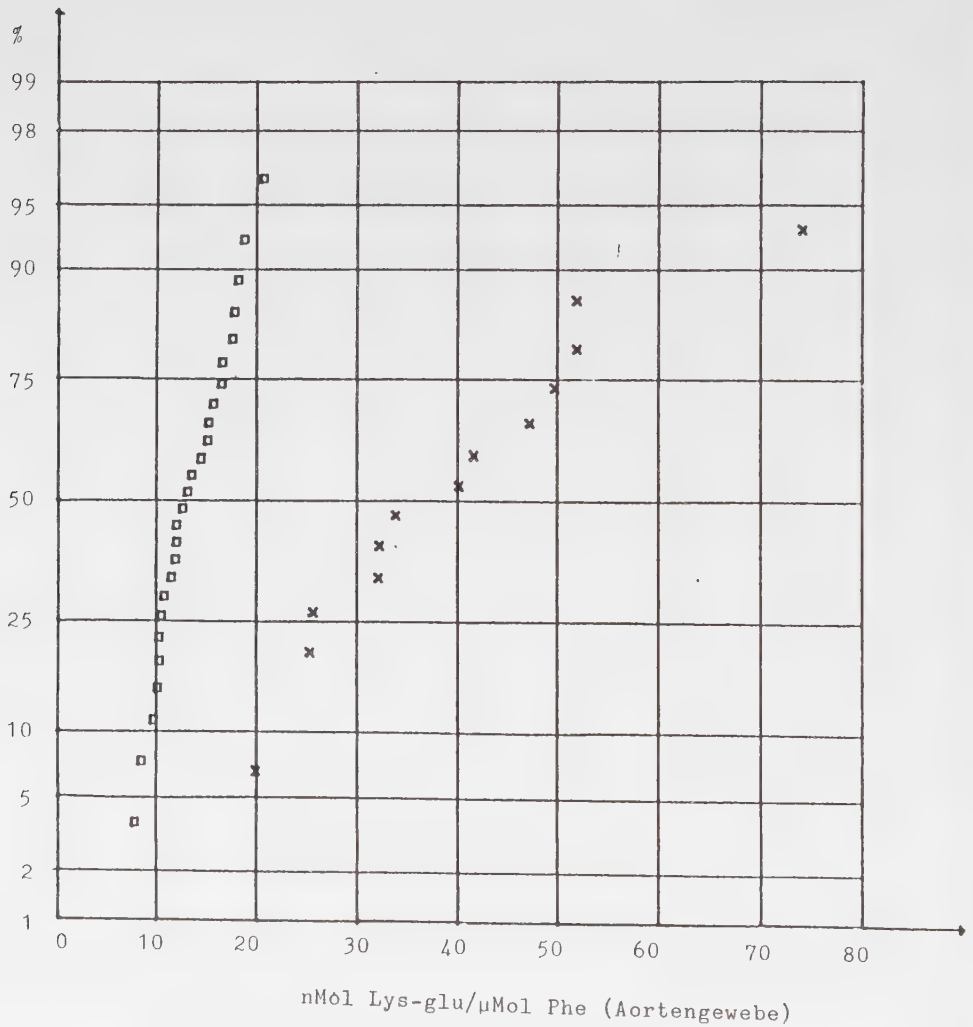
NEG Lungen- bindegewebe			Index der Spätkomplikationen	Bemerkungen zur Klinik und zur Pathologie	Patient Nr.
nMol Lys-glu/μMol Phe	nMol Lys-glu/mg Feuchtgew.				
58	8,4	4		auf Insulin eingestellter Diabetes, AVK, frischer Myokardinfarkt	48
28	4,0	1		Borderline Diabetiker, transmuraler Infarkt mit Ventrikeldruptur, Tod durch Herzbeutelamponade	49
43	6,2	3		in den letzten 2 Wochen auf Insulin eingestellt, zuvor orale Antidiabetika, Lebercirrhose, Tod durch Herzversagen	50
26	3,8	0		Alkoholabusus, Hundbodenkarzinom, Zustand nach Bilioth II, chronische Pankreatitis, Tumorkachexie, Tod an zentralem Herz-Kreislaufversagen	51
--	--	0		akute gastrointestinale Blutung, Tod an zentralem Herz-Kreislaufversagen	52
--	--	1		chronische Emphysebronchitis, Cor pulmonale, Tod durch Rechtsherzversagen	53
--	--	0		metastasierendes cholangiozelluläres Karzinom der Leber, Tumorkachexie	54
21	3,1	1		Hirnbasisaneurysma, zentrales Herz-Kreislaufversagen	55
--	--	1		eitrige Leptomeningitis, Steroiddiabetes bei Glucocorticoidtherapie, angiomatöse Fehlbildung des Gehirns, Subarachnoidalblutung, dissoziierter Hirntod	56
28	4,0	1		Herzinfarkt	57
26	3,8	2		KHK, chronische Emphysebronchitis, Cor pulmonale, Tod durch Rechtsherzversagen, Osteomyelofibrose	58
30	4,4	1		Basilaristhrombose, Steroiddiabetes bei Glucocorticoidtherapie, zentrales Herz-Kreislaufversagen	59
30	4,3	5		orale Antidiabetika, extreme Adipositas, Glomerulosklerose Kimmelstiel-Wilson, rezidivierende Lungenarterienembolie, Tod durch akutes Rechtsherzversagen	60
36	5,2	0		chronische myeloische Leukämie, Steroiddiabetes bei Glucocorticoidtherapie, Tod durch toxisches Herz-Kreislaufversagen bei einem Blastenschub	61
25	3,6	2		AVK, Borderline-Diabetes, Tod durch Herzversagen	62
--	--	1		Korpuskarzinom	63
33	4,8	1		Tod durch Herzversagen	64
25	3,6	1		Lungenarterienembolie beidseits, Tod durch Rechtsherzversagen	65
32	4,6	1		Tod durch Herzbeutelamponade bei bekanntem Aortenaneurysma	66

Anhang 2

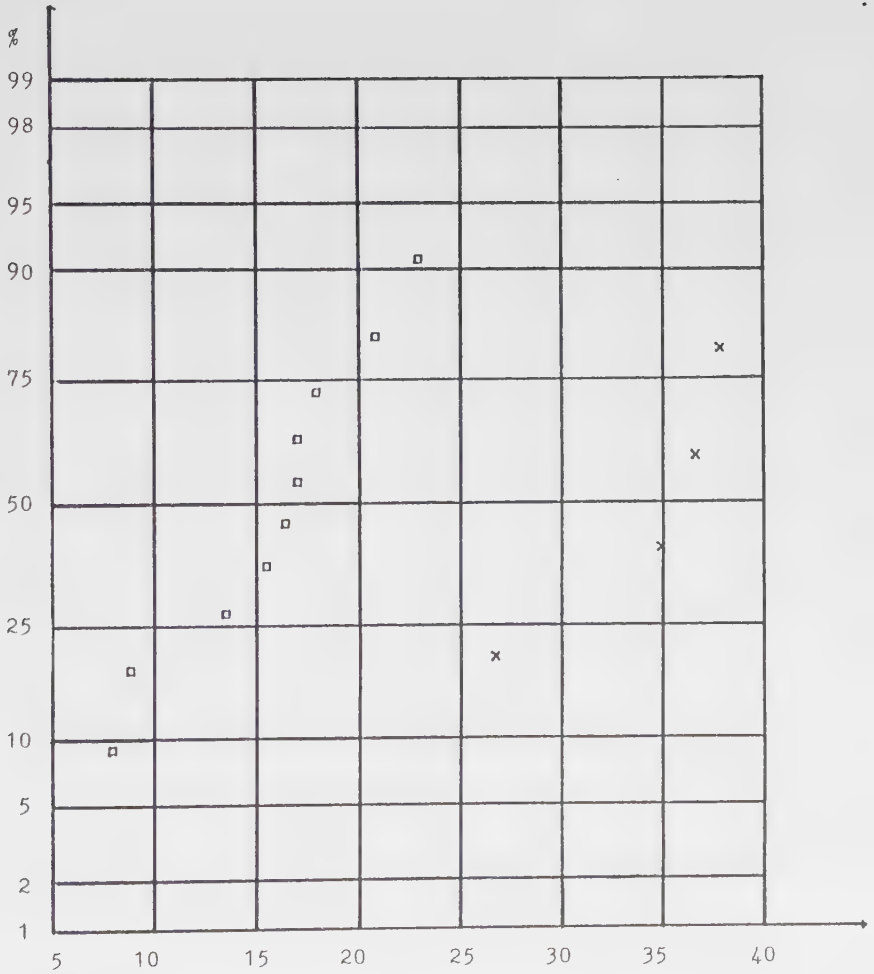
Statistische Auswertung: Auftragung der
nichtenzymatischen Glukosylierung dia-
betischer (x) und nichtdiabetischer (□)
Proben jeweils eines bestimmten Gewebes
auf Wahrscheinlichkeitspapier.



($\alpha < 0.005$)

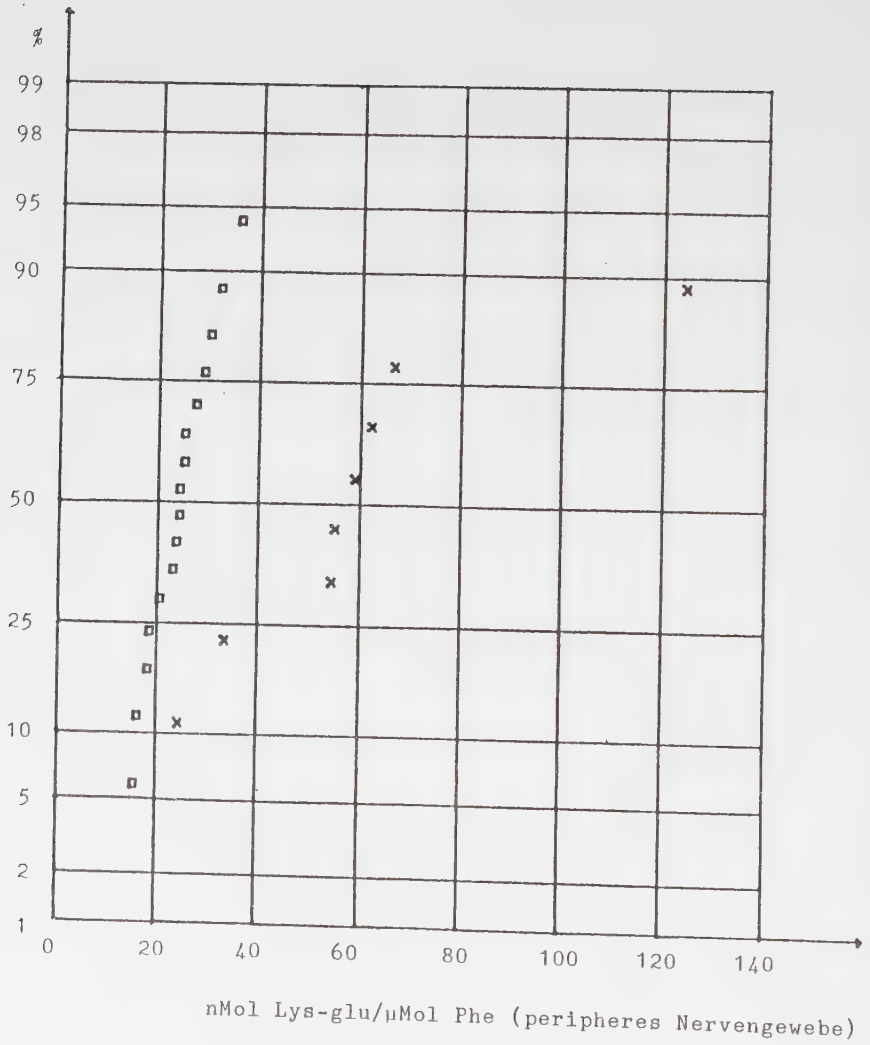


($\alpha < 0.005$)

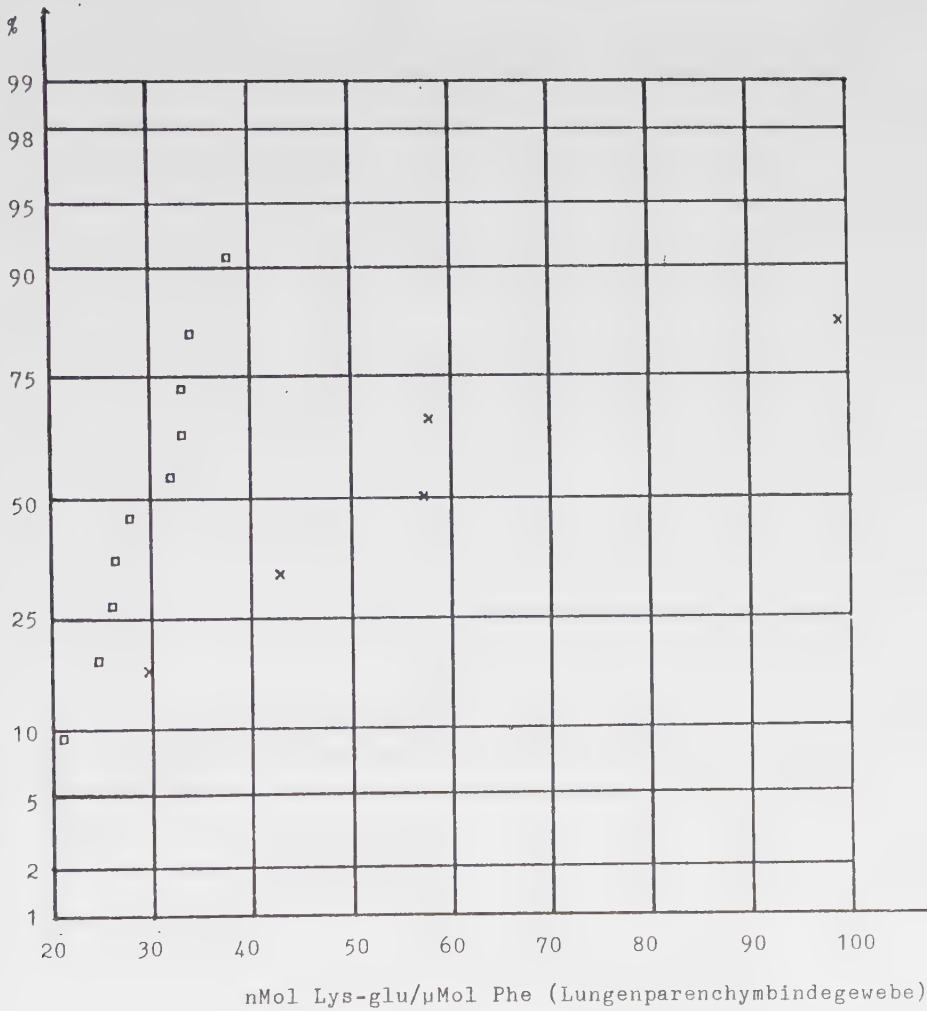


nMol Lys-glu/μMol Phe (Koronararterien)

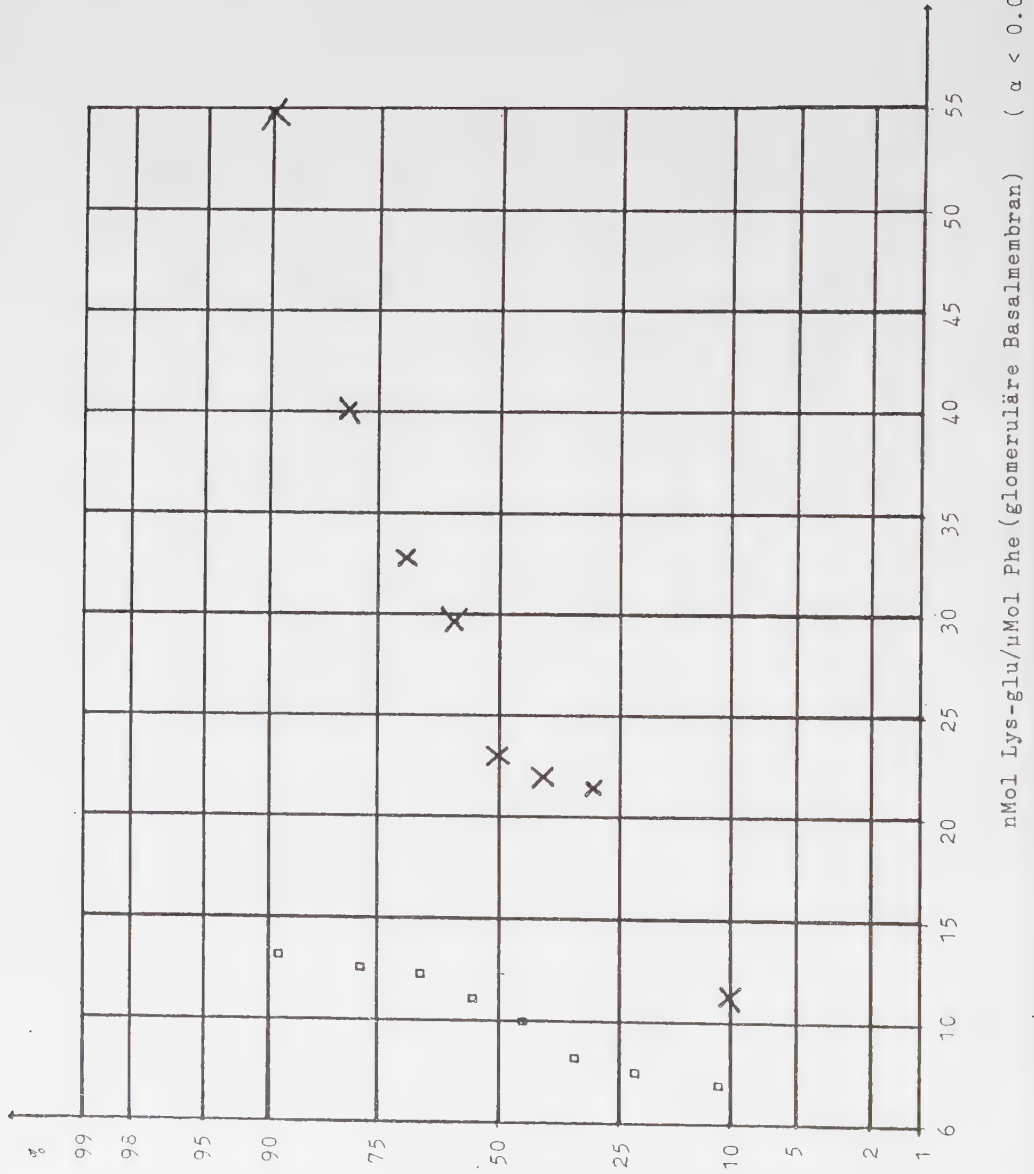
($\alpha < 0.005$)



($\alpha < 0.005$)



($\alpha < 0.005$)



Dank

Vorliegende Arbeit entstand in der Zeit vom März 1981 bis Juni 1983 am Institut für Klinische Chemie und für Diabetesforschung des Städtischen Krankenhauses München - Schwabing.

Herrn Prof.Dr.O.H.Wieland,

der das Thema zu dieser Arbeit anregte, möchte ich herzlich danken für wertvolle Diskussionen, die notwendige Kritik und großzügige Unterstützung in vielfacher Hinsicht.

Besonders bei Herrn Dr.E.Schleicher und auch allen anderen Mitarbeitern der Forschergruppe Diabetes bedanke ich mich herzlich für die gute Zusammenarbeit, anregende Diskussionen und praktische Hilfe bei der Arbeit.

Herrn Prof.Dr.K.Wurster und seinen Assistenzärzten von der Pathologie des Schwabinger Krankenhauses danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Gewinnung der Proben.

Fräulein E.Wagner sei für ihre tatkräftige Mithilfe bei den nicht immer angenehmen Probenaufarbeitungen gedankt.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und der Fritz-Thyssen Stiftung danke ich für die finanzielle Förderung.

Lebenslauf

Name: Bernd Wolfram Vogt

Geburtsdatum: 10.7.51

Geburtsort: Fürth/Bayern

Staatsangehörigkeit: deutsch

Eltern: Robert Vogt, Rechtsanwalt
und Ingeborg Vogt, geb. Heiß

- 1958-1962 Besuch der Volksschule in Nürnberg und
Garmisch-Partenkirchen
- 1962-1971 Besuch des Werdenfels-Gymnasiums, math.-nat.
Zweig in Garmisch-Partenkirchen
- 1971-1977 Studium der Chemie an der Ludwig-Maximilians-
Universität in München
- 1977 Abschluß mit Diplom, Diplomarbeit am Institut
für Physikalische Chemie (Thema: Leicht
polarisierbare Wasserstoffbrücken zwischen
Polyarginin und Phenolen, eine infrarot-
spektroskopische Untersuchung)
- 1978-1979 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut
für Physikalische Chemie
- 1976-1984 Studium der Humanmedizin an der Universität
München
- 1981-1982 Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Forscher-
gruppe Diabetes am Krankenhaus München-
Schwabing und Anfertigung obiger
Dissertationsarbeit
- 1984 Approbation als Arzt

